

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung. XIII. Band.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck
in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freuden-
reich in Bern, Prof. Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in
Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Prof. Dr. M. C.
Potter, Durham College of Science, New-castle-upon-Tyne, Prof.
Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr.
Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof.
Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

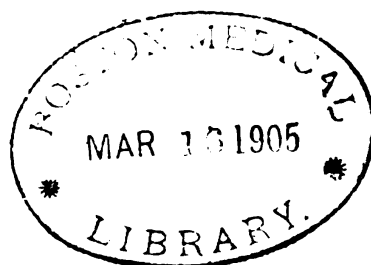
Zweite Abteilung. XIII. Band.

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie
und Pflanzenpathologie.**

Mit 14 Tafeln und 43 Abbildungen im Texte.



Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1904.



8541

CENTRALBLATT

MAR 16 1905

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof.
Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr.
Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/31.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XIII. Band.

Jena, den 21. September 1904.

No. 1/3.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

*Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die
Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung
der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.*

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des Landwirtschaftlichen
Instituts der Universität Leipzig.]

Von Dr. W. Kuntze, Vol.-Assistent.

Mit 1 Tafel und 1 Textfigur.

Gelegentlich einer eingehenden bakteriologischen Untersuchung
zweier Stalldüngerproben konnte ich einige Tatsachen konstatieren,
denen, vom allgemeinen bakteriologischen Standpunkt aus betrachtet,
eine gewisse Bedeutung nicht abgesprochen werden dürfte, und die

Zweite Abt. Bd. XIII.

1

deshalb an dieser Stelle kurz besprochen werden sollen, während bezüglich der übrigen in erster Linie die Landwirtschaftswissenschaft interessierenden Ergebnisse auf die demnächst an anderer Stelle mitzuteilende vollständige Arbeit verwiesen wird.

Der Dünger wurde mir von Herrn Prof. Dr. Wolf-Döbeln mit dem Bemerken zur Verfügung gestellt, daß derselbe 13 Jahre lang unter pilzdichtem Verschlusse sich befunden habe, währenddem ein konstanter Sauerstoffstrom die Aufbewahrungsgefäße passierte.

Mir fiel die Aufgabe zu, den Charakter der Bakterienflora zu untersuchen und zu ermitteln, ob sich etwa ein Unterschied zwischen dem vermittelt Superphosphatgips konservierten Teile im Gegensatz zu dem ohne konservierende Substanzen eingeschlossenen sich ergebe.

Die hier zu erörternden Beobachtungen sollen sich nur auf folgende Punkte erstrecken:

Vorkommen, Form und Wachstumserscheinungen des *Bacillus denitrificans agilis* (Ampola und Garino) und *Bacillus oxalaticus* (Zopf).

Durch die bisher übliche Gepflogenheit, die einzelnen Bakterienarten ausschließlich vermittelt Kochscher Fleischbouillon-Gelatineplatten zu isolieren, wie dies die Handbücher medizinischer Richtung bei Wasser-, Luft- und Bodenuntersuchungen meist heute noch allein empfehlen¹⁾, ist von vornherein nur Aussicht auf einseitige Resultate gegeben, insofern als man auf diese Weise fast nur die ziemlich scharf umschriebene Gruppe der Fäulnisbakterien erhält. Da aber hierbei gerade die landwirtschaftlich wichtigeren Arten, z. B. die stickstoffsammelnden, denitrifizierenden und die Harnstoff zersetzenden, leicht verborgen bleiben, so habe ich in gewisser Weise versucht, die Kochsche Methode mit dem Beijerinckschen Anreicherungsverfahren zu vereinigen.

Zur Begründung der von mir befolgten Arbeitsweise sei hier der Kürze halber auf den bereits früher erschienenen Aufsatz von L ö h n i s²⁾ verwiesen und nur erwähnt, daß ich die beiden genannten Bakterien erhielt, als ich in nachfolgender Weise mit Giltayscher Lösung operierte.

Letztere besaß ursprünglich folgende Zusammensetzung:

Dest. Wasser	1000 g	
Salpeter	2 "	} A
Dextrose	2 "	
Magnesiumsulfat	2 "	} B
Citronensäure	5 "	
Kaliumphosphat	2 "	
Chlorcalcium	0,2 "	
Eisenchlorid	2 Tropfen	

A und B für sich gelöst, B während des Kochens mit Soda neutralisiert, dann erst mit A zusammengeschüttet³⁾).

1) Im übrigen vergl. auch Hiltner und Störmer, Arbeiten aus der biologischen Abteilung des Kaiserl. Gesundheitsamtes. Bd. II. 1903. Heft 5.

2) Centr. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. p. 262.

3) Vergl. Stutzer, Centr. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. p. 393.

Die Lösung wurde in Mengen von je 100 ccm in sog. Verbrennungskölbchen, wie sie bei Stickstoffsbestimmungen üblich sind, sterilisiert und letztere mit je 5 g Mist beimpft.

Nach Verlauf mehrerer Tage trat bei Zimmertemperatur Gärung mit kräftiger Schaumbildung ein, dieselbe währte ziemlich lange und war erst nach 13 Tagen beendet. Der Stickstoffverlust betrug in Prozenten des zugesetzten Salpeterstickstoffs:

beim nichtkonservierten Mist 64,01

„ konservierten „ 58,67

Die Vermehrungsverhältnisse waren anfangs für die denitrifizierenden Bakterien offenbar nicht günstig genug, sei es daß der Dünger infolge der durch sein Alter bedingten starken Konzentration und des damit verbundenen hohen Salzgehaltes nachteilig eingewirkt hatte, oder daß sich auch andere Arten in demselben befanden, welche auf die Entwicklung der Denitrifikanten einen hemmenden Einfluß ausübten.

Als die Kolben in stärkster Gärung standen, wurden aus dem gut umgeschüttelten Gemische Gußplatten angelegt und in der Folge die dabei beteiligten Arten herausisoliert.

Es fanden sich im ganzen acht verschiedene, zum Teil durch Bildung recht charakteristischer Farbstoffe ausgezeichnete Bakterienarten, sowie eine *Actinomyces*.

Der denitrifizierende *Bacillus* blieb zunächst verborgen, die ersten sieben Species zeigten auf Giltay-Lösung, weder isoliert noch in Mischkulturen, eine Schaumbildung und Stickstoffentbindung, auch blieb die Salpeterreaktion der Röhrchen gegen Diphenylamin unverändert bestehen. Nur ein einziges wies sehr geringe Bläschenbildung auf, da aber schon die mikroskopische Prüfung das Vorhandensein zweier Arten erkennen ließ, wurde dasselbe einstweilen zurückgestellt, weil möglicherweise Verunreinigung durch einen fremden Keim vorliegen konnte.

Dagegen verschwand die Reaktion regelmäßig nach einigen Tagen, wenn die Giltay-Röhrchen mit nicht zu geringen Mengen Mist beschickt wurden, es blieb dabei gleichgültig, ob konservierter oder Dünger ohne Zusatz hineingegeben wurde. Eine wenn auch nur geringe Bläschenbildung war dabei aber nicht immer wahrzunehmen.

Versuche, nach dem Vorgange früherer Autoren durch weitere Uebertragungen lebhaftere Gärung zu veranlassen und zu einer Reinkultur zu gelangen, scheiterten zuerst daran, daß die verwendete Lösung der Entwicklung von Schimmelpilzen, welche reichlich im Impfmateriel vorhanden waren, recht förderlich sich zeigte. Deshalb zog ich vor, die Dextrose aus der Giltay-Lösung auszuschalten und wählte nunmehr die Originalmischung, welche folgende Substanzen enthält¹⁾:

Dest. Wasser	1000 g	
Salpetersaures Kali	2 „	} A
Asparagin	1 „	

1) Vergl. Kochs Jahresbericht. Bd. III. 1892. p. 226.

Schwefelsaure Magnesia	2	"	} B
Citronensäure	5	"	
Kaliummonophosphat (KH_2PO_4)	2	"	
Chlorcalcium	0.2	"	
Eisenchlorid, einige Tropfen			

A und B für sich gelöst, B mit Kalilauge während des Kochens neutralisiert, dann zusammengeschüttet und vorschriftsmäßig sterilisiert.

Die Zusammensetzung ist also eine etwas andere als Stutzer¹⁾ für das Originalrezept angibt.

Meine Absicht wurde erreicht; die Schimmelbildung trat zurück und schon nach drei Uebertragungen fand bei Bruttemperatur lebhaftere Schaumbildung statt, welche auch mit vollständigem Schwinden der Diphenylaminreaktion einherging.

In der sechsten Ueberimpfung hoffte ich nun eine Reinkultur des Denitrifikanten vorzufinden, doch ließ wiederum schon die mikroskopische Prüfung des gefärbten Präparates erkennen, daß mindestens zwei verschiedene Arten vorlagen.

Auf gewöhnlichen Fleischgelatineplatten erntete ich eine der bereits gewonnenen Species, welche aber nicht denitrifizierte. Ebenso erging es mir bei Verwendung von Giltay-Gelatine. Erst durch Giltay-Agarplatten — 1¹/₂ Proz. Agar letztangeführter Mischung zugesetzt — gelang die Reinzüchtung des lange gesuchten Gärungserregers.

Dieser wuchs auf Fleischbouillongelatine äußerst langsam und kümmerlich heran, erst nach mehr als 8 Tagen zeigten sich sehr kleine kreisrunde Kolonien, im Durchmesser kaum größer als 360—400 μ , und sehr geringe Entwicklung in Stichkulturen.

Die kulturellen Merkmale stimmten so vollständig mit den von Ampola und Garino²⁾ sowie H. Jensen³⁾ für *Bacillus denitrificans agilis* angegebenen überein, daß von einer Wiederholung der Beschreibung abgesehen werden kann und diese nur in einigen Punkten vervollständigt werden soll.

Durch seine geringe Größe, 0,5—1,5 μ lang, 0,3 dick, sowie außerordentlich lebhaftere Beweglichkeit ist er unschwer von den anderen bislang beschriebenen Denitrifikationsorganismen zu unterscheiden. Auch hatte ich Gelegenheit, den Králschen Stamm mit meiner Kultur zu vergleichen; Gestalt und Wachstumserscheinungen verhielten sich identisch, nur hatte sich der Agilis Král den üblichen Nährböden im Laufe der Zeit etwas mehr angepaßt und entwickelte sich demzufolge verhältnismäßig viel schneller.

Im Gegensatz zu H. Jensen gelang es mir, Geißeln bei *Bac. denitrificans agilis* nachzuweisen; die von Ampola und Garino⁴⁾ angegebene Zahl von 8—10 und mehr erscheint mir jedoch etwas hoch gegriffen, sie dürfte 6 wohl nicht übersteigen.

1) l. c.

2) Centr. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. p. 670 u. f.

3) Ebenda. Bd. IV. p. 401 u. f.

4) l. c.

Die Anordnung der Cilien ist peritrich. (Vergl. Photogramm No. 2.)

Die Bouillonkultur des Králschen Stammes zeigt, abweichend von den von Ampola und Garino gemachten Erfahrungen, nach 8 Tagen eine lockere weißliche Decke, welche sich beim Berühren des Röhrchens leicht zu Boden senkt. Mein frisch isolierter *Agilis* ließ in Uebereinstimmung mit Ampola und Garino zunächst keine Decke erkennen, dieselbe trat erst nach mehreren Wochen und besonders nach mehrfachen Uebertragungen in salpeterfreie Lösungen auf.

Durch verschiedene Umstände gewann es den Anschein, daß der von mir gezogene *Agilis* einen mehr alkalischen Nährboden liebt, und in der Tat stellte sich heraus, daß man die Entwicklung um mehrere Tage beschleunigen konnte, wenn die benutzte Fleischgelatine gegen Lackmus eine etwas stärkere alkalische Reaktion zeigte als gewöhnlich. Alsdann werden die immerhin winzigen Kolonien ansehnlicher, und bei der Gelatinestichkultur entsteht statt des kleinen Knöpfchens an der Oberfläche eine etwas flachere und verbreiterte Auflagerung, welche sich unter analogen Bedingungen auch beim Králschen Stamm zeigt.

Somit erscheint das Rätsel, weshalb *Bac. denitrificans agilis* meines Wissens von anderen Autoren nicht wieder gefunden wurde, dadurch gelöst, daß zur Isolierung der Denitrifikationsbakterien meist die Giltay'sche Lösung mit Zuckerzusatz, welcher an sich einer Säurebildung günstig ist, sowie neutrale Salpeterbouillon, bez. Gelatine verwendet wurde, und auf letzterer wird er infolge seiner äußerst langsamen Entwicklung nur zu leicht übersehen.

Da ich mich entsann, daß ein Röhrchen, welches schwache Bläschenbildung erkennen ließ, unter dem Verdachte einer Fremdinfection zurückgestellt war, unterzog ich nun dasselbe, welches auch nicht mehr gegen Diphenylamin reagierte, einer genauen Prüfung mit dem positiven Ergebnis, gleichfalls den *Bac. denitrificans agilis* in einem der Bewohner zu ermitteln, wobei mir die Kenntnis seiner Vorliebe für schwach alkalische Nahrung sofort zu statten kam. Sein Begleiter erwies sich identisch mit jenem Bacillus, welcher bei den Rohkulturen noch in der sechsten Ueberimpfung auf Giltay-Lösung zu finden war. Dieser ist zwar nach der Größe wie dem Bau seiner Kolonien während der ersten Entwicklungsstadien dem *Agilis* äußerst ähnlich, so daß eine Täuschung leicht möglich ist, indes liebt er einen neutralen bis schwach sauren Nährboden. Die älteren Oberflächenkolonien dagegen sind ausgebreiteter und flacher, im Ausstrichpräparat macht er sich durch eine geringe Polfärbung leicht dem *Agilis* gegenüber kenntlich. (Ausführliche Beschreibung soll in der eingangs erwähnten Arbeit folgen.)

Endlich sei noch bemerkt, daß eine Bläschenbildung in Umgebung der Kolonien auf salpeterhaltigen Platten nur bei den eingeschlossenen und zwar erst in verhältnismäßig später Zeit auftritt; die Luft wirkt offenbar der Denitrifikation entgegen. Weit

günstiger läßt sich letztere auf Agarstrichkulturen beobachten, der Giltay-Agar wird schon nach kurzer Zeit mit großer Gewalt durch Gärungsblasen zersprengt.

Das Verschwinden der Diphenylaminreaktion während der ersten zwei bis drei Ueberimpfungen der Rohkulturen und zwar ohne Schaumbildung, wie es schon Jensen¹⁾ wiederholt beobachtet hatte, veranlaßte mich, der Ursache dieser eigentümlichen Erscheinung nachzuforschen, da die Vermutung nicht von der Hand gewiesen werden kann, daß diese „stille Denitrifikation“ durch die Gegenwart einer oder mehrerer anderer Arten bestimmter Bakterien veranlaßt wird.

Deshalb legte ich nochmals Gußplatten von den ersten Rohübertragungen an, dieses Mal mit alkalischer Gelatine.

Schon die erste Ueberimpfung enthielt nur zwei Arten und zwar den bekannten *Agilis* sowie einen großen verflüssigenden *Bacillus*, welcher dem Bau seiner Kolonien nach der Gruppe des *Subtilis* oder *Anthrax* nahestand (siehe Textfigur).

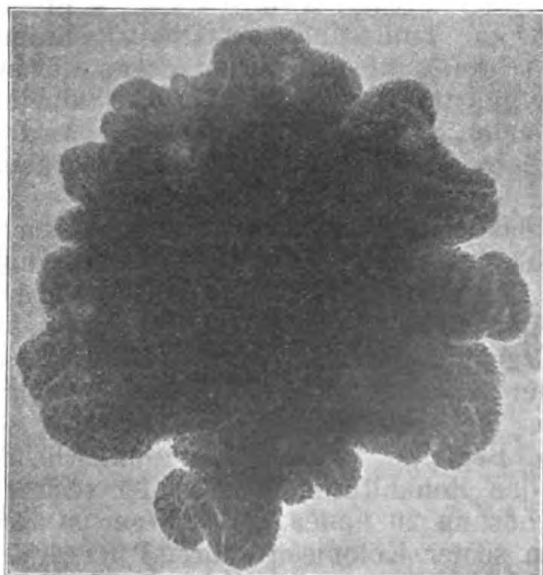
Die weiteren Versuche, letzteren in Reinkultur zu erhalten, bereiteten mir insofern einige Schwierigkeiten, als der *Agilis* fast in jeder seiner Kolonien mit anzutreffen war, ja sich in seiner

Gesellschaft äußerst behaglich zu fühlen schien, so daß auch die Größe um ein wenig zunahm, während die Reinkulturen desselben die bekannten Dimensionen nicht überschritten. Im hängenden Tropfen fand sich der große *Bacillus* stets lebhaft von seinem kleinen Trabanten umschwärmt, ein recht charakteristisches Bild;

sternartige Anhäufungen, welche ich in einem Photogramm festzuhalten versucht habe (s. Taf. Fig. 1). Vielleicht handelt es sich hier um eine Symbiose, über welche die Versuche noch nicht abgeschlossen sind.

Da der große Mikrobe Sporen bildet, so gelang es, ihn durch Abkochen vom *Agilis* zu trennen.

Die Reinkultur stimmt in morphologischer und physiologischer



Gelatineplattenkolonie des *Bac. oxalaticus* am 3. Tage, Vergr. 50fach. Apochromat 16 mm, Kompensationsokular 2, Zeiss Anastigmatlinse 224 mm. Technik vgl. Tafelerklärung sub 1.

1) l. c.

Beziehung vollständig mit den von Migula¹⁾ für *Bacillus oxalaticus* (Zopf) gegebenen Merkmalen überein, auch hatte Herr Professor Zopf selbst, dem ich eine Kultur übersandte, die Güte, mir mitzuteilen, daß er nach Form und Dimensionen der vegetativen wie der Sporen bildenden Zellen und der Sporen selbst, ebenfalls glaube, sein Patenkind wiederzuerkennen.

Von besonderem Interesse war es nun, daß auch die Größenverhältnisse meines Stammes sich identisch mit den ursprünglich bekannten zeigten, wonach dieser *Bacillus* als ein Riese seiner Gattung angesehen werden muß, während schon Migula¹⁾ mitteilt, daß der ihm von Zopf übersandte Stamm während der Kultur an Größe erheblich eingebüßt habe. Ebenso war der von Král bezogene Stamm von *Bac. oxalaticus*, den Lehmann und Neumann²⁾ untersuchten, in seinen Größenverhältnissen beträchtlich reduziert. Die letztgenannten Autoren konnten auch weder Beweglichkeit noch Geißeln bemerken. Dagegen hatte ich Gelegenheit zu konstatieren, daß beides bei der jüngst von Král bezogenen Kultur noch vorhanden ist. Im Mikrophotogramm No. 3 bringe ich ein Geißelpräparat aus meiner Kultur, das dem Králschen unter Berücksichtigung der geringeren Größenverhältnisse durchaus entspricht.

Oxalaticus Král zeigt im hängenden Tropfen schlanke Stäbchen und Fäden, 3–10 μ und darüber lang, 1,5 bis noch nicht 2 μ dick, die Stäbchen sind teilweise lebhaft beweglich nach Art des *Subtilis*. Neben den bacillären Formen finden sich auch, aber seltener, kurze, dicke, rundliche Formen, welche dagegen in meinen Kulturen überwiegen (vergl. Photogramm No. 6), und zwar sind die Králschen entsprechend kleiner, ihre Dicke und Länge beträgt 2–3 μ in maximo. Die Beweglichkeit ist bei den Stäbchenformen meines *Oxalaticus* weit geringer, auch anders geartet, mehr tauchend, kriechend als wackelnd.

In der Folge konnte auch ich die Beobachtung machen, daß die Größe des *Oxalaticus* bei Weiterzüchtung auf gewöhnlichen Nährböden allmählich abnimmt; dieser Degeneration wirkt am ehesten noch ein öfterer Wechsel des Nährsubstrates entgegen, indem man abwechselnd auf Giltay-Agar und gewöhnlicher Fleischgelatine kultiviert. Weitere Erfahrungen in dieser Beziehung bleiben selbstredend noch abzuwarten.

Den kulturellen Merkmalen habe ich noch hinzuzufügen, daß Milch langsam koaguliert und peptonisiert wird. Von der Art der Sporenkeimung, welche Migula³⁾ ebenfalls unerwähnt läßt, ist weiterhin die Rede.

Interessant sind die eigentümlichen Formen, welche unser *Oxalaticus* gelegentlich zeigt, wovon das Mikrophotogramm No. 4 eine gute Vorstellung gibt, das Präparat ist der Einzelkolonie einer Reinkultur entnommen.

1) Migula, System der Bakterien. Bd. II. p. 538.

2) Lehmann und Neumann, Atlas und Grundriß der Bakterienkunde. 1899. p. 307.

3) Migula, l. c.

Im Präparat No. 5 der Tafel bringe ich polar keimende Sporen, nach Günther¹⁾ mit Anilinwasserfuchsin und Methyleneblau gefärbt. Bisweilen, jedoch seltener, erfolgt die Keimung schräg. Die Entwicklung einer sporentragenden Zelle innerhalb derselben Fadenreihe wird durch Mikrogramm No. 7 wiedergegeben und dadurch nachgewiesen, daß sporentragende sowie granulierten Zellen innerhalb desselben Fadens auftreten können.

Der Vollständigkeit halber soll endlich noch bemerkt werden, daß sich die Reinkulturen des *Oxalaticus* nicht befähigt erwiesen, die sichtbare Denitrifikation des *Agilis* zu verhindern; es muß die Frage offen bleiben, ob das Gärungsvermögen des *Bac. denitrificans agilis* etwa durch Zuchtwahl erheblich zugenommen hat.

Als ich die Kulturen des *Oxalaticus* im hängenden Tropfen prüfte, um die Reinheit derselben, besonders die Abwesenheit des *Agilis* festzustellen, fielen mir bei stärkerer Vergrößerung (Zeiss Apochromat 1,5 oder 2 mm, Okular 8—12) zu wiederholten Malen winzig kleine bewegliche Punkte auf, wie ein solcher (infolge seiner Stellung im Gesichtsfeld schwarz erscheinend) auf dem Photogramm No. 6 zu erkennen ist.

Zunächst für Bakterien (Kokken) angesehen, ergab es sich, daß sich, wenn der Tropfen ausgestrichen und fixiert wurde, mit den gewöhnlichen Anilinfarben stets nur *Bac. oxalaticus* erkennen ließ, die Gegenwart kleinster Kokken oder Bacillen dagegen niemals nachzuweisen war. Ebenso ergab das wiederholte Anlegen von Gußkulturen, wie auch die Herstellung weiterer Abimpfungen, daß zuverlässig Reinkulturen vorlagen.

Als das Untersuchungsmaterial einmal von einer frischen Gelatineplatte, welche bereits anfang, sich zu verflüssigen und deshalb für einige Zeit in den Eisschrank gestellt worden war, entnommen wurde, fielen die erwähnten beweglichen Körperchen ganz besonders durch ihre große Zahl in die Augen; die Erwärmung wirkte offenbar günstig auf ihr Erscheinen. Ja, es konnten mehrmals im hängenden Tropfen (Leitungswasser) Zellen beobachtet werden, welche ihren Inhalt in die umgebende Flüssigkeit entleerten.

Davon, daß es sich überhaupt in der Tat um aktiv bewegliche Körper, nicht etwa um irgend welche ausgestoßene Zellsubstanzen, die die Brownsche Molekularbewegung zeigen konnten, handelte, überzeugte ich mich dadurch, daß ich durch Zugabe von Formalin, Aether, Chloroform oder Sublimat die Bewegung sistieren konnte. Zuweilen kamen nicht alle kleinen Körperchen völlig zur Ruhe, sondern es blieb in einigen Fällen eine geringe Molekularbewegung (durchaus verschieden von der vorher beobachteten lebhaften Schwärmbewegung) bestehen, was namentlich dann beobachtet werden konnte, wenn, wie dies mitunter vorkommt, zwei oder mehrere der Schwärmer dicht aneinander gelagert auftraten.

Da die Tinktion des fixierten Materiales, wie schon mitgeteilt, in gewisser Weise eine negative Deutung erfahren konnte, wenn

1) Günther, Einführung in das Studium der Bakteriologie. 1898. p. 136.

sie nicht überhaupt versagte, denn es wurden doch nur Produkte erzeugt, welche ebensogut als Kunstprodukte wie organisierte Körperchen angesehen werden konnten, so galt es, auf andere Methoden zu sinnen, um den Nachweis der lebend beobachteten kleinen Individuen zu ermöglichen.

Nach Zusatz einer Spur Jodjodkaliumlösung zum lebenden Material im hängenden Tropfen konnte man wahrnehmen, daß sich in den letzteren bei stärkster erreichbarer Vergrößerung ein außerordentlich kleiner dunkler Punkt erkennen ließ. Ebenso auch innerhalb der rundlichen Zellen (vgl. Photogramm No. 6); die kleinen Körnchen zeigten einen kaum sichtbaren schwärzlichen zentralen Punkt. Falls das Material geeignet war, konnte ich gelegentlich wahrnehmen, daß die nunmehr deutlicher erkennbaren kleinen Körner noch eine Zeitlang ihre schwärmenden Bewegungen ausführten.

Da ich vermutete, der zentrale Teil werde von einer durch Anilinfarben in gewöhnlicher Weise nicht nachzuweisenden Hülle umgeben, so versuchte ich, dieselbe mit Löfflerscher Beize sichtbar zu machen. Das Ergebnis war ebenfalls negativ.

Besser, doch immer noch nicht befriedigend, gestaltete sich das Resultat, wenn in folgender Weise verfahren wurde: Der hängende Tropfen wurde zunächst geprüft, ob sich Schwärmer darin befanden, in diesem Falle folgte sofort Fixierung durch Osmiumdämpfe, alsdann ließ ich ihn langsam eintrocknen und färbte durch 12- bis 24-stündiges Einlegen in Parakarmin (nach P. Mayer).

In einem solchen Präparate fand sich unter mehreren auch das durch Photogramm No. 8 wiedergegebene Bild. Dasselbe zeigt die Entleerung einer Zelle; die Schwärmer, die hier, weil die umgebende Hülle deutlich sichtbar ist, ziemlich groß erscheinen, — außerdem sind sie infolge Diffraktion bei der photographischen Wiedergabe etwas verbreitert — stehen gerade im Begriff, hervorzutreten, die Zellhaut selbst geht dabei durch Auflösung zu Grunde, ganz so wie es des öfteren im lebenden Zustande von mir gesehen wurde.

Gelegentlich ließ sich innerhalb der Bläschen ein dunkler gefärbter Punkt beobachten.

Durch zahlreiche Versuche konnte ich feststellen, daß auf Vorhandensein beweglicher Schwärmer nur dann mit einiger Sicherheit zu rechnen ist, wenn die Zellen ein bestimmtes Reifestadium besitzen, wie es die mehrfach erwähnten Photogramme No. 6 und 8 annähernd erkennen lassen. Auf dieser Entwicklungsstufe tingiert auch Hämatoxylin (Delafield) die in den Zellen liegenden Körnchen, sowie die ausgestoßenen Massen.

Ob und welche Beziehungen zwischen den Schwärmern und den von Migula¹⁾ als chromatinähnliche Substanzen angesehenen Körnern im Innern der Zellen von *B. oxalaticus* bestehen, mag dahingestellt bleiben.

1) Migula l. c. Bd. I. p. 89.

Wie schon erwähnt, stellte Migula seine Untersuchungen mit einem Stamm, den er von Zopf erhalten hatte, an. Bei Untersuchung des auf die gleiche Quelle zurückzuführenden Králschen Stammes, den ich mir kommen ließ, und der sich, wie bemerkt, als sehr degeneriert erwies, konnte ich nur selten einige bewegliche Körnchen auffinden.

Mit den von mir verwendeten Kernfarbstoffen, wie Boraxkarmin, Methylgrün-Salzsäure, Pikrokarmin gelang es trotz zahlreicher verschiedener Fixierungen nicht, die Hülle der Schwärmer mitzufärben, es tingierten sich immer nur jene Substanzen, welche allen möglichen Erklärungen Raum geben.

Die weiteren Versuche in dieser Beziehung gestalteten sich äußerst schwierig, da einmal die Körperchen so klein sind, daß die Wahrnehmung derselben hart an die Grenze der Leistungsfähigkeit unserer besten Instrumente gebunden ist, und es ferner auch auf ein bestimmtes Entwicklungsstadium ankommt, welches nicht immer leicht richtig zu treffen ist.

Als ich lebend untersuchtes Material, welches Schwärmer enthält, in Pikrinosmiumessigsäure (20 ccm Pikrinsäurelösung, 1—2 ccm 2 Proz. Osmiumsäure, 0,2 ccm Eisessig) fixierte, darauf nach der zum Nachweise von Tuberkelbacillen üblichen Methode färbte, worauf kurze Einwirkung stark verdünnten wässerigen Methylenblaus folgte, konnte ich gelegentlich tiefrote kleine runde Punkte finden, welche den Zellen teils frei angelagert waren, teils im Begriff standen, aus denselben sich zu befreien.

Doch ist es nötig, daß bei der Differenzierung in diesem Falle nicht so weit gegangen wird, wie es bei den Tuberkelbacillen erforderlich ist, es genügt, schwach angesäuerten, etwa 1 Proz. Salzsäure enthaltenden Alkohol zu verwenden.

Als selbstverständlich gilt auch, daß das Präparat zu einer Zeit angelegt wird, wo noch keine Sporen in demselben vorhanden sein können¹⁾.

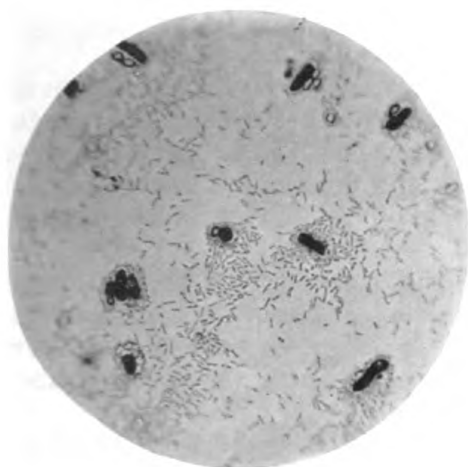
Der Bildung der letzteren geht in der Regel eine charakteristische Polfärbung voraus, sie finden sich auch immer nur in der Einzahl in ihrer Zelle eingebettet. Ihre Größe ist augenfällig, und nicht selten sind sie noch von der Membran der abgestorbenen Zelle, welcher sie entstammen, umschlossen. (Vgl. Photographum No. 5.)

Nach dem Resultate der heißen Karbolfuchsinfärbung lag die Vermutung nahe, daß die Hülle der Schwärmer im wesentlichen fettartiger Natur ist.

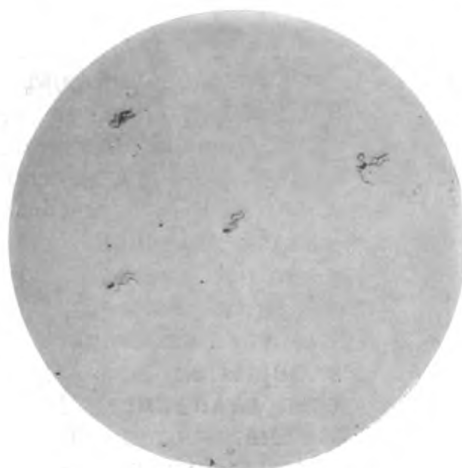
Zusatz von Alkannatinktur läßt im hängenden Tropfen, wie auch gelegentlich in den Bakterien selbst, zahlreiche Fettbläschen erkennen, ebenso auch die Sudanfärbung.

Indessen wird das Urteil über den Ausfall der Färbung im letzteren Falle leicht sehr unsicher, da eine Emulsion der Farbstofflösungen entsteht, in welcher sich die zahlreichen Farbstofftröpfchen in molekularer Bewegung befinden.

1) Bouillon mit derartigem Material geimpft und 5 Minuten auf 90° erhitzt, muß steril bleiben.



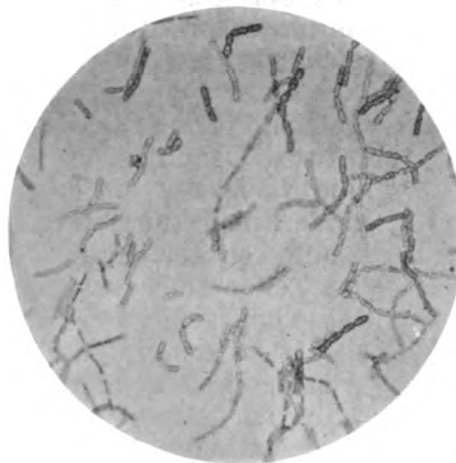
1



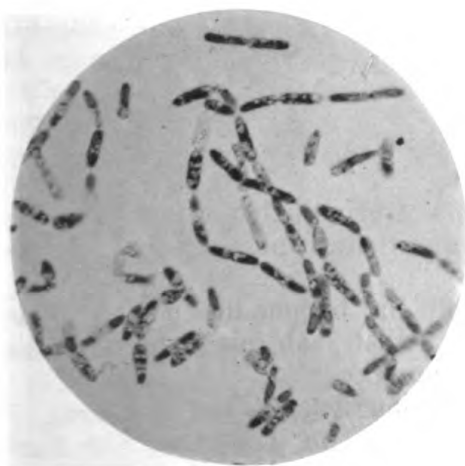
2



3



4



5



6

Färbt man hingegen nach der Vorschrift von Arthur Meyer¹⁾ so erzielt man außerhalb der Zellen reichliche Farbstoffniederschläge, welche kein sauberes Bild aufkommen lassen, oder aber die Schwärmer werden, falls man danach trachtet, das Präparat durch Spülen zu reinigen, leicht herunter geschwemmt.

Ohne behaupten zu wollen, daß meine Methode nicht verbesserungsfähig wäre, verwende ich jetzt zum Nachweis der Schwärmer Chlorzinkjodlösung, welche in Spuren dem hängenden Tropfen zugesetzt wird.

Die kleinen Körper werden alsdann gelblich bis dunkelbraun sichtbar, sie behalten ihre kreisende und zappelnde Bewegung oft noch eine Zeitlang bei.

Nachdem man sich von ihrer Existenz im hängenden Tropfen überzeugt hat, kann man das Deckglas, welches letzteren trägt, auf einen glatten Objekträger legen, ihre Gestalt wird dann besser kenntlich, oft werden durch den gelinden Druck noch mehr Zellen entleert.

Die Schwärmer sind gefärbt meist unter $0,5\ \mu$ groß, sie entsprechen in ihrer Form den mehrfach erwähnten innerhalb der Zellen gelegenen körnigen Substanzen, welche sich auch in gleicher Weise tingieren.

Ob die gelegentlich auftretenden runden schwächer gefärbten und weniger beweglichen Bläschen den Schwärmern zuzuzählen sind, erscheint mir vorerst nicht ganz sicher, da die Möglichkeit nicht bestritten werden kann, daß im vorliegenden Falle auch nicht lebende Substanzen durch Chlorzinkjod gefärbt wurden.

Trotz mehrfacher Bemühungen ist es mir nicht gelungen, Genaueres über das weitere Schicksal der Schwärmer zu erfahren, da sich dieselben einesteils durch ihre geringe Größe und Beweglichkeit leicht der weiteren Beobachtung entziehen, andererseits mir auch die Zeit fehlte, meine Untersuchungen in dieser Beziehung noch weiter auszudehnen.

Wenn die Schwärmer als solche wirklich ein Glied in der Entwicklungsgeschichte des *Bac. oxalaticus* repräsentieren, so müßte sich mit größter Wahrscheinlichkeit auch eine andere Entwicklungsform als die, welche direkt aus den Sporen entsteht, verfolgen lassen; obwohl hierfür einige Anzeichen vorzuliegen scheinen (vgl. auch das Photogramm No. 4 und die dazu neben der Tafel gegebene Erklärung), so wird man mir doch nicht verdenken können, wenn ich mich nicht allzuweit auf rein hypothetischem Gebiete bewegen will.

Als ich, durch meine Beobachtungen veranlaßt, die Literatur nach analogen Erscheinungen durchsuchte, erfuhr ich zu meiner Ueberraschung, daß ich mit ersteren nicht ganz vereinzelt dastehe, es ist insbesondere die Mitteilung von Trambusti und Galeotti²⁾, welche über einige ähnliche Erfahrungen bei einem leider nicht genauer bestimmten *Bacillus* berichten, denen sie aber eine etwas andere Deutung geben.

1) Arthur Meyer, Botanisches Praktikum der Bakterienkunde. p. 87.

2) Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Bd. XI, 1892. p. 717.

In dem soeben erschienenen ersten Heft von Lafars Handbuche der technischen Myhologie bringt Migula im zweiten Kapitel eine kritische Uebersicht über die in dieser Beziehung bisher gesammelten Beobachtungen, dieselbe veranlaßt mich, vorliegende Ausführungen mit der allergrößten Reserve bekannt zu geben; es soll ja hier schließlich nur die Frage aufgeworfen werden, ob die von mir gesehenen Körperchen überhaupt als Schwärmer auszusprechen sind.

Es möge genügen, auf diese immerhin einiges Interesse beanspruchende Erscheinung hingewiesen zu haben und darauf aufmerksam zu machen, daß *Bac. oxalaticus* ein geeignetes Material zu derartigen Studien darstellt, falls es gelingen sollte, seine Größe durch geeignete Züchtung konstant zu erhalten, woran ich eigentlich nicht zweifeln möchte, da das Substrat, welchem er entstammt, doch schon ziemlich alt ist und sehr lange gelagert hat.

Den weitgehendsten Aufschluß aber dürften wir wohl am ehesten durch vervollkommnetere Instrumente zu erwarten haben, wenn es nicht etwa möglich sein sollte, durch bessere Fixierungs- und Färbungsmethoden, als ich sie in Anwendung brachte, mehr Licht in diese schwierige Frage zu bringen.

Leipzig 1904.

Tafelerklärung.

1) *Bac. oxalaticus*, vegetative Zellen und Sporen, ferner *Bac. denitrificans agilis*, mehrtägige Agarstrichkultur, gefärbt mit wässrigem Fuchsin. Vergr. 750-fach (mit Objektmikrometer bestimmt). Die Aufnahme erfolgte mit Zeiss Apochromat 2 mm, Kompensationsokular No. 2, anstatt des Projektionsokulars wurde hier Zeiss Anastigmatlinse 224 mm, Serie VII, im Augenpunkt über dem Mikroskop an der Camera angebracht, verwendet. Nach derselben Methode sind auch die Bilder No. 2, 3, 4, 6 und 7, sowie die Textfigur hergestellt.

2) *Bac. denitrificans agilis* mit Geißeln, 12-stündige Agarkultur, die Färbung erfolgte nach van Ermengem, mit den Modifikationen, wie ich sie im Centr. f. B. Abt. I. Bd. XXXII. p. 555 geschildert habe. Vergrößerung 750-fach.

3) *Bac. oxalaticus* mit Geißeln, ebenfalls nach van Ermengems Methode gefärbt, ich besitze auch ein nach Löffler tingiertes Präparat, welches die ungemein zahlreichen Cilien noch feiner zur Anschauung bringt, jedoch wegen der großen Zartheit derselben nicht so gut zur Reproduktion geeignet ist.

Das Material entstammt einer 8—10 Stunden alten Agarkultur. Vergr. 500.

4) *Bac. oxalaticus*, Ausstrich aus ein und derselben mehrere Tage alten Gelatineplattenkolonie, gefärbt mit wässrigem Fuchsin, Vergrößerung 500-fach. In diesem Bilde sind kurze, gedrungene „Rosenkranzformen“ und schlanke, scheinbar einer anderen Art zugehörige Bacillen zu sehen.

5) *Bac. oxalaticus* mit Sporen, einige keimend, teils noch in Fäden eingeschlossen. Färbung Anilinwasserfuchsin und Methylenblau. Vergr. 1000. Zeiss Apochromat 2 mm, Projektionsokular 4.

6) *Bac. oxalaticus*, kurze, gedrungene Zellen, einer 2—3-täg. Gelatineplattenkolonie entstammend, in Gelatine eingeschlossen lebend photographiert. Vergr. 750-fach. Auf dem Bilde ist ein schwarzer Punkt zu bemerken, welcher einen rotierenden Schwärmer darstellt.

7) *Bac. oxalaticus*, Zellfaden, mit einer sporentragenden und einer granulierten Zelle. Lebend in Gelatine eingeschlossen photographiert. Vergr. 750-fach.

8) *Bac. oxalaticus*, junge Zellen von mehrtägiger Gelatineplatte, fixiert Osmiumsäure, 12—24 Stunden mit Parakarmin gefärbt. Vergr. ca. 1000-fach. Die Schwärmer sind im Begriff herauszutreten, die sich auflösende Zellhaut ist nur noch als schwacher Schatten sichtbar. Infolge Diffraction, welche der Deutlichkeit wegen absichtlich herbeigeführt wurde, erscheinen die Blasen wesentlich größer.

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis der Erbllichkeit bei den einzelligen Organismen. — Die Verzweigung und Mycelbildung bei einer Bakterie (*Bacillus Berestnewi* n. sp.).

Von Dr. W. W. Lepeschkin, St. Petersburg.

Mit 20 Figuren.

(Schluß.)

Tabelle.

Als Ausgangspunkt für alle Kulturen diene eine Kultur A auf Fleischpeptonagar, in denen eine verzweigte Bakterie ungefähr auf 5000 unverzweigte Zellen kam. Die Untersuchung der Kulturen fand 18 Stunden nach der Aussaat statt.

- 1) Fleischpeptonagar, geimpft von A, Temp. 18° C. Die relative Zahl der verzweigten Bakterien bleibt ungefähr dieselbe wie in A.
- 2) Fleischpeptongelatine, geimpft von A, Temp. 20° C. Wie in 1.
- 3) Kartoffel, geimpft von A, Temp. 20° C. Die relative Zahl der verzweigten Zellen hat sich merklich vergrößert. Das Verhältnis ist ungefähr 1:1000.
- 4) Kartoffel, geimpft von 3, Temp. 20° C. Die Vermehrung der verzweigten Zellen scheint fortgeschritten zu sein.
- 5) Kartoffel, geimpft von 4, Temp. 20° C. Verzweigte Zellen 1:600.
- 6) Fleischpeptonagar mit 1 Vol. von Eigelb (Lecithin) gemischt, geimpft von A, Temp. 20° C. Verzweigte Zellen 1:600.
- 7) Substrat wie bei 6, geimpft von 6, Temp. 20° C. Verzweigte Zellen 1:300.
- 8) Substrat wie 7 und 6, geimpft von 7, Temp. 20° C. Verzweigte Zellen 1:200.
- 9) Fleischpeptongelatine + 1 Proz. Asparagin und 2 Proz. Glykose, geimpft von A, Temp. 20° C. Verzweigte Zellen 1:600.
- 10) Substrat wie in 9, geimpft von 9, Temp. 20° C. Verzweigte Zellen 1:200.
- 11) " " " 9, " " 10, " 20° " " " 1:250.
- 12) " " " 9, " " 11, " 18° " " " 1:200.
- 13) " " " 9, " " 12, " 18° " " " 1:200.
- 14) " " " 9, " " 13, " 18° " " " 1:150.
- 15) " " " 9, " " 14, " 18° " " " 1:130.
- 16) " " " 9, " " 15, " 18° " " " 1:150.
- 17) Von der Kultur 16 ausgehend auf Fleischpeptongelatine + 1,5 Proz. Asparagin und + 3 Proz. Dextrose im Verlauf von 4 Tagen täglich einmal geimpft. Die letzte Kultur wurde 20 Stunden nach der Aussaat untersucht. Temp. 18° gehalten. Zweigbildung 1:70.
- 18) Fleischpeptonagar verdünnt mit 5 Vol. Wasseragar, geimpft von A. Keine verzweigten Zellen.
- 19) Fleischpeptongelatine verdünnt mit 5 Vol. Wassergelatine, geimpft von A. Keine verzweigten Zellen.
- 20) Fleischpeptongelatine verdünnt mit 5 Vol. Wassergelatine, geimpft von 15, Temp. 20° C. Verzweigte Zellen 1:1000.
- 21) Fleischpeptongelatine verdünnt mit 5 Vol. Wassergelatine, geimpft von 20, Temp. 20° C. Verzweigte Zellen nicht zu finden.
- 22) Substrat wie in 9, geimpft von 21, Temp. 20° C. Verzweigte Zellen 1:700.
- 23) Substrat wie in 22 und 9, geimpft von 22, Temp. 20° C. Verzweigte Zellen 1:400.
- 24) Fleischpeptonagar, geimpft von 15, Temp. 20° C. Verzweigte Zellen 1:400.
- 25) Substrat wie in 24, geimpft von 24, Temp. 20° C. Verzweigte Zellen 1:700.

Aus den beschriebenen Versuchen ersieht man, daß das Zahlenverhältnis der verzweigten Zellen zu den unverzweigten um so größer ist, je besser die Ernährung der Bakterie erfolgt. Andererseits kann die Zahl der verzweigten Zellen nicht über einen bestimmten Grenzwert hinaus gesteigert werden. Vielleicht würde sich auch solch ein Nährsubstrat auffinden lassen, in welchem eine Verzwei-

gung sämtlicher Zellen erfolgen würde; bei meinen Versuchen erhöhte jedoch selbst die beste Ernährung, die ich erzielen konnte, das Verhältnis der verzweigten Zellen zu den unverzweigten nur bis 1:70.

Was nun die anderweitigen stofflichen Einflüsse anbelangt, so zeigten meine Versuche, daß giftige Stoffe, die deprimierend auf das Wachstum der Bakterie wirken und die Oidienbildung beschleunigen, auch die Zahl der verzweigten Zellen vermindern. Andererseits kann ich die Angaben A. Meyers in Bezug auf die Wirkung der nicht giftigen Salze auf die Zweigbildung bestätigen. Das Wachstum der Bakterie wird gehemmt, die Oidienbildung verlangsamt; der Zerfall der verzweigten Keimfäden in unverzweigte Zellen findet langsamer statt; deshalb können die verzweigten Zellen noch in 3 Tage alten Kulturen beobachtet werden. Das Verhältnis der verzweigten Zellen zu den unverzweigten wird aber dabei nicht erhöht.

VII. Die Vererbung der Zweigbildungsfähigkeit.

Auf Grund der von A. Meyer mitgeteilten Tatsachen könnte man schon eine Erblichkeit der Zweigbildungsfähigkeit vermuten. Wie bekannt, konnte A. Meyer die Zweigbildung nur in den Kulturen beobachten, die von derjenigen Kultur stammten, in welcher die Zweigbildung zum ersten Male aufgetreten war. Daß sich die Zahl der verzweigten Zellen in der Ausgangskultur wenigstens an der nächsten Nachkommenschaft bemerkbar macht, ist auch aus meinen Versuchen 1, 2, 24 und 25 zu ersehen. Um uns aber eine klare Vorstellung über den Vererbungsvorgang der Zweigbildungsfähigkeit zu machen, müssen wir uns der direkten Beobachtung der Nachkommenschaft ausgewählter verzweigter sowie auch unverzweigter Zellen zuwenden.

Ein Quantum der Bakterienmasse von Kultur 15 wurde in einem Bouillontropfen aufgerührt. Der Tropfen wurde so stark verdünnt, daß auf eine kleine Platinöse nur einige hundert (600—800) Zellen gerieten. Es wurden alsdann einige Plattenkulturen auf Deckgläschen in Feuchtkammern angestellt, wobei auf jede Platte je eine Platinöse des verdünnten Bouillontropfens kam. Das Platten-substrat bestand aus Fleischpeptongelatine mit 0,5 Proz. Asparagin und 1 Proz. Dextrose. Verzweigte und unverzweigte Zellen wurden alsdann durch 4 Tintenpünktchen auf den Deckgläschen markiert und abgezeichnet. Nach Verlauf von 16 Stunden (18° C) wurden die markierten Zellen wieder untersucht.

Es ergab sich, daß sich von jeder markierten Bakterie 20—50 neue Zellen entwickelt hatten. In der Nachkommenschaft jedes verzweigten Stäbchens konnte man dabei 5—13 Proz. verzweigter Zellen zählen (das Verhältnis war also 1:20—1:7), während in der Nachkommenschaft der 50 markierten unverzweigten Zellen sich keine einzige verzweigte Zelle vorfand. Die direkte Beobachtung zeigte also, daß die Fähigkeit zur Zweigbildung von der Nachkommenschaft vererbt wird, wenn auch dem Anschein nach nicht von allen Nachkommen.

Im angeführten Versuche konnte die Beobachtung nicht weiter fortgesetzt werden, weil die später ausgewachsenen Bakterienkolonien zu undurchsichtig waren, um die verzweigten Zellen in denselben zählen zu können. Um die Zweigbildung in weiteren Generationen zu verfolgen, mußte der Versuch etwas modifiziert werden. Es wurde folgendermaßen verfahren: Der Bouillontropfen wurde soweit verdünnt, daß in die Platinöse nur eine Zelle geraten konnte. Auf diese Weise wurden einige Feuchtkammern hergestellt, in deren Gelatineplatte je eine einzige Zelle isoliert wurde. Die isolierten Zellen wurden mittelst beweglichen Objektisches unter schwacher Vergrößerung aufgesucht und mit Pünktchen markiert. Von den hergestellten Kammern waren nur zwei, in denen sich später nur je eine einzige Bakterienkolonie bildete. Daher führe ich im folgenden nur die Zahlen an, welche ich bei der Zählung der Bakterien in diesen zwei Kammern erhielt. In beide Kammern waren unverzweigte Zellen geraten. Leider gelang es mir nicht, bis jetzt auch verzweigte Zellen zu isolieren, weil dafür mindestens 300—400 Feuchtkammern nötig wären.

Temp. 15° C. 17 Stunden nach der Aussaat verwandelte sich die 1. Zelle (Kammer I) in 26 und die 2. (Kammer II) in 32 unverzweigte Zellen. In der 4.—5. Generation sind also in der Nachkommenschaft noch keine verzweigten Zellen aufgetreten.

40 Stunden nach der Aussaat entwickelten die beiden Zellen je eine Kolonie. Die Gelatineplatten wurden verflüssigt (bei 30° C) und die Kolonien gut aufgerührt. Nach dem Erstarren der Gelatine wurden die bis jetzt einzeln liegenden Zellen gezählt. In der Kammer I waren ungefähr 2100 Zellen gebildet, in der Kammer II 3800 Zellen. Es waren noch keine verzweigten Zellen gefunden (mittelst beweglichen Objektisches).

72 Stunden nach der Aussaat wurden die Gelatineplatten wieder verflüssigt und gut aufgerührt. Nach dem Erstarren der Gelatine wurden die Zellen aufgezehlt. In der Kammer I waren ca. 170 000 Zellen vorhanden, von welchen 25 Zellen verzweigt waren. In der Kammer II waren ca. 250 000 Zellen vorhanden, von welchen 180 Zellen verzweigt waren. Die verzweigten Zellen sind also erst während der 15.—18. Generation aufgetreten. Die

Verhältnisse $\frac{\text{verzw. Z.}}{\text{unverzw. Z.}} =$ für Kammer I 1:6800 und für Kammer II 1:1400.

96 Stunden nach der Aussaat wurden die Gelatineplatten verflüssigt, aufgerührt und erstarren gelassen. In der Kammer I wurden ungefähr 2 900 000 Zellen aufgezehlt, von welchen 4200 verzweigt waren. In der Kammer II waren 4 100 000 Zellen vorhanden, von welchen 6500 verzweigt waren. Das Verhältnis ist also in Kammer I 1:660, in Kammer II 1:610.

Aus den oben angeführten Versuchen ergibt sich, daß auch in den unverzweigten Zellen die Fähigkeit zur Zweigbildung innegehalten wird. Sie kommt aber erst in entfernten Generationen zum Vorschein (bei guter Ernährung, wie z. B. im angeführten Versuche, erst in der 18.—19. Generation). Nachdem aber diese

Fähigkeit aufgetreten ist, schreitet die Zweigbildung immer vorwärts, um früher oder später ein Maximum zu erreichen.

Die Isolierung der Nachkommenschaft von unverzweigten Zellen in Feuchtkammern unternahm ich auch bei schlechterer Ernährung der Bakterie (so z. B. bei der Ernährung mit Fleischpeptongelatine, zu der 4 Vol. Wassergelatine zugesetzt wurden). In diesem Falle konnte ich aber keine Zweigbildung beobachten. Daher könnte man nicht daran zweifeln, daß es nur die bessere Ernährung ist, welche die Zweigbildungsfähigkeit, die in den unverzweigten Zellen versteckt erhalten wird, zur Entwicklung bringt.

VIII. Eine Hypothese, welche die beschriebenen Tatsachen erklären soll.

In der oben zitierten Abhandlung ist A. Meyer geneigt, anzunehmen, daß die plötzlich ohne einen Bedingungswechsel entstandene Zweigbildungsfähigkeit bei *Bacillus cohaerens* Atavismus darstellt. Die Zweiganfängebildung beweist seiner Meinung nach, daß die Vorfahren der Bakterien ein echt verzweigtes, septiertes Mycel besaßen. Die Willkürlichkeit der Meinung Meyers ist jedoch offenbar. Dürfen wir in der Tat jede neu entstehende Fähigkeit einer Species als Atavismus bezeichnen, wenn uns die Vorfahren derselben unbekannt sind? Ich glaube es nicht. Im Gegenteil müssen wir eine neu entstehende Fähigkeit in diesem Falle nur als Neubildung bezeichnen, besonders dann, wenn diese Fähigkeit auch von der Nachkommenschaft vererbt wird; wenigstens spielt sie die Rolle einer neu erworbenen. Wie sich die Fähigkeit der Zweigbildung bei *Bacillus Berestnewi* gebildet hat, wissen wir nicht, doch läßt sich vermuten, daß sie ähnlich wie *Bacillus cohaerens* entstanden ist. Wir sahen, daß diese Fähigkeit erblich ist und sich also wie ein konstantes morphologisches Zeichen verhält. Das letztere wird sich vermutlich auch auf den *Bacillus cohaerens* beziehen. Wenn das sich als richtig erweisen sollte, würde die spontane Entstehung der Zweigbildungsfähigkeit (wie es bei *Bacillus cohaerens* der Fall ist) nicht als Atavismus bezeichnet werden dürfen. Wir wollen aber nicht mehr Voraussetzungen über den Ursprung der Zweigbildung bei *Bacillus Berestnewi* machen und versuchen, uns die oben beschriebene Tatsache der Vererbung dieser Fähigkeit bloß durch wenige Nachkommen zu erklären, indem wir die Zweigbildung bei *B. Berestnewi* als ein morphologisches Zeichen ansehen.

Die Träger der Zweigbildungsfähigkeit (d. h. die Bestandteile der Zellen, deren Vorhandensein die Zweigbildung veranlaßt) müssen in den verzweigten sowie auch in den unverzweigten Zellen vorhanden sein, weil die Zweigbildung auch in der Nachkommenschaft der letzteren früher oder später erscheint. Da weiter mehrere der nächsten Nachkommen der unverzweigten Zellen auch verzweigt und diejenigen der unverzweigten Zellen unverzweigt sind, müssen wir annehmen, daß nur eine genügend große Anzahl der Träger der Zweigbildungsfähigkeit in der Zelle die Zweigbildung hervor-

rufen kann. Je größer die Erbmasse in der Mutterzelle ist, desto größer ist sie selbstverständlich auch in den Tochterzellen! Die Erbmasse der Mutterzelle muß ferner nicht gleichmäßig unter den Tochterzellen verteilt sein, weil es öfters vorkommt, daß nur eine der Tochterzellen einen Zweig trägt. Wie wir sahen, üben die Ernährungsbedingungen einen merklichen Einfluß auf die Zweigbildung aus; daher müssen wir annehmen, daß die Vermehrung der Erbmasse in der Zelle bei besserer Ernährung energischer von statten geht. Durch die angenommene Hypothese wird das Vorhandensein eines Maximums der Zweigbildung unter bestimmten Ernährungsbedingungen, nach dem die Nachkommenschaft der verzweigten und unverzweigten Zellen strebt, leicht erklärlich¹⁾. Der Einfluß der Ernährungsbedingungen auf die Vermehrung der Erbmasse (in unserem Falle, der Träger der Fähigkeit zur Zweigbildung) ist also stärker als der auf die Vermehrungsenergie der Zellen selbst. Man könnte vermuten, daß auch der Temperatureinfluß auf die beiden verschieden ist. Die maximale Vermehrungsenergie der Zellen könnte z. B. bei anderen Temperaturen stattfinden als die der Erbmasse. Andererseits könnte die Vermehrung der Erbmasse bei niedrigerer Temperatur aufhören als die Vermehrung der Zellen. In der Tat zeigen meine Versuche in dieser Beziehung, daß die günstigste Temperatur für die Zweigbildung die niedrige ist (4—7°). Bei höherer Temperatur wird sie dagegen geschwächt, und während lange dauernder Kultur kann sie sogar gänzlich ausbleiben. So verschwand die Zweigbildungsfähigkeit während der 14 Tage dauernden Kultur (tägliche Umimpfung) von *Bacillus Berestnewi* auf Nähragar bei 26° C (Maximum der Zellenvermehrung) so vollständig, daß sie auch nicht durch 4 hintereinanderfolgende Umimpfungen auf Asparagin-Dextrose-Gelatine hervorgerufen werden konnte, trotzdem die Ausgangskultur (No. 16 der oben beschriebenen Versuche) das Zahlenverhältnis der verzweigten zu den unverzweigten Zellen von 1:150 hatte.

IX. Ueber die Bildung von septiertem Mycelium bei *Bacillus Berestnewi*.

In den oben beschriebenen Versuchen wurde gezeigt, daß durch den Zusatz von 1 Proz. Asparagin und 2 Proz. Dextrose zur Nährgelatine die Zweigbildung vermehrt werden kann. Aus der Wachstumsbeobachtung der verzweigten Zellen in Feuchtkammern wissen wir andererseits, daß in der nächsten Nachkommenschaft derselben bis 13 Proz. der Zellen verzweigt sein können. Die letztere Beobachtung wurde bei Bakterien gemacht, die von der Kultur No. 10 stammten; als Nährsubstrat wurde dabei Fleischpeptongelatine mit 0,5 Proz. Asparagin und 1 Proz. Dextrose verwendet. Als ich aber als Aussaat die Bakterien von der Kultur No. 17 und als Nährsubstrat Fleischpeptongelatine mit 1—1,5 Proz. Asparagin und

1) Hier unterlasse ich es, mathematische Beweise dafür zu bringen, beabsichtige aber in einer anderen, bald zu publizierenden Abhandlung die diskutierte Frage ausführlich zu behandeln. Die Untersuchung wird fortgesetzt.

2—3 Proz. Dextrose verwendete (die Anfertigung der Feuchtkammern fand in einem sehr feuchten Raume statt), wurde ich sehr überrascht, unter den ausgewachsenen Kolonien (nach Verlauf von 18 Stunden, bei 15° C) einige kleine echte Mycelien vorzufinden (auf 600—1000 Kolonien kamen nur 1—4 Mycelien), die aber schon während des nächsten Tages in gewöhnliche verzweigte und unverzweigte Zellen zerfielen (s. Fig. 15). Die Untersuchung mit Apochromaten und Färbung zeigten, daß die Mycelien septiert waren.

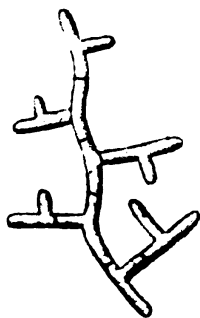


Fig. 15. Ein kurzes septiertes Mycel, von der Kultur in Feuchtkammer gezeichnet.

Das Auftreten der Mycelien wird meiner Meinung nach auf folgende Weise ganz befriedigend erklärt:

Durch die bessere Ernährung wurde die Anzahl der Träger der Zweigbildungsfähigkeit in einzelnen Zellen, in welchen dieselbe am größten war, offenbar so stark erhöht, daß alle nächsten Nachkommen der letzteren zur Zweigbildung veranlaßt waren.

Da aber die Langfadenbildung zugleich sehr gefördert wurde, blieben die Zellen, die sich aus den Zweigen gebildet hatten, eine Zeitlang am Mutterfaden sitzen und trieben noch vor ihrem Abbrechen ihrerseits neue Zweige, was die Mycelbildung bedingte.

X. Ueber die Bildung von unseptiertem Mycelium bei *Bacillus Berestnewi*.

Als ich einmal, kurz nachdem ich die Bakterie von Dr. Berestnew erhalten, eine 5 Tage alte Kultur derselben auf Fleischpeptonagar untersuchte, fand ich ganz unerwartet zwischen den Oidien zerstreut (die Stäbchen zerfallen schon am 3. Tage gänzlich in Oidien) einige sehr wenige stark verzweigte Bildungen von etwas größerer Dicke als die gewöhnlichen Stäbchen der Bakterie (Fig. 16). Man konnte ungefähr eine solche Bildung auf 20 000 000 gewöhnliche Oidien aufzählen. Mehrere derselben konnte ich auf folgende Weise in Feuchtkammern untersuchen: Zunächst suchte ich mittels beweglichen Objekttrags die Gelatineplatte der Feuchtkammer durch, in welcher die Bakterien (Oidien) dicht aufgerührt waren, und markierte die zu untersuchenden verzweigten Bildungen mit Tintenpünktchen auf dem Deckgläschen. Dann schnitt ich mit einem sterilen Messerchen denjenigen Teil der Gelatineplatte aus, in welchem sich die markierte Bildung befand, trug es in einen frischen Gelatinetropfen auf dem Deckgläschen ein und rührte nach dem Verflüssigen der Gelatine (in der Feuchtkammer und im Thermostaten bei 30° C) den Tropfen gut auf. Nach dem Erstarren der Gelatine suchte ich die zu untersuchende verzweigte Gestalt wieder auf und markierte sie mit Pünktchen. Das beschriebene Verfahren konnte, wenn nötig, wiederholt werden, bis die erwünschte Verdünnung der Bakterienmasse erreicht ist.

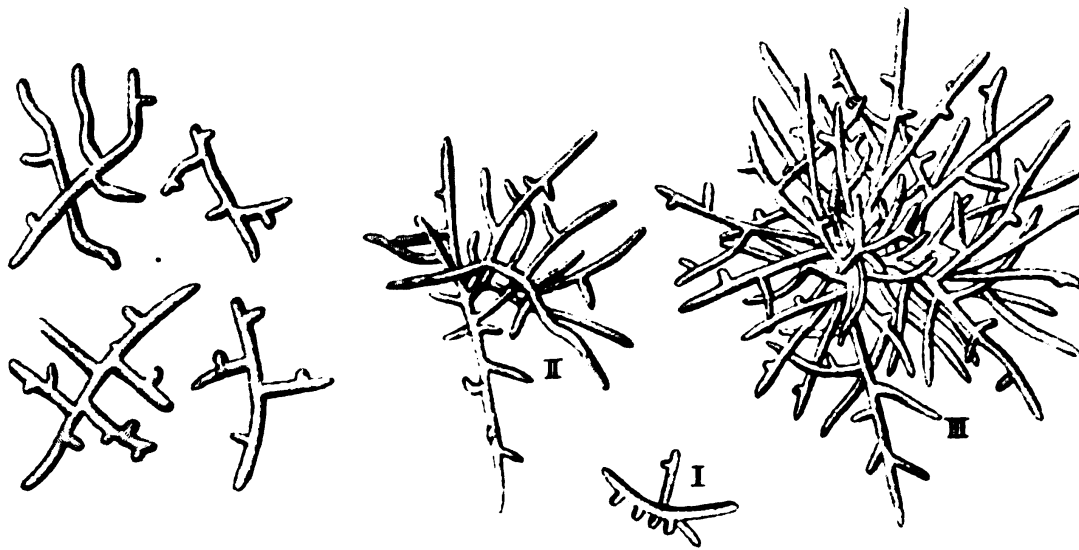


Fig. 16.

Fig. 17.

Fig. 16. Myceliale Bildungen, die in einer alten Kultur der Bakterie gefunden wurden. Vergr. 2300.

Fig. 17. Drei Entwicklungsstadien einer der mycelialen Bildungen zum größeren Mycelium.

Einige der auf diesem Wege isolierten Bildungen erwiesen sich bei weiterer Kultur in der Feuchtkammer als wachstumsunfähig, die anderen konnten sich aber weiter entwickeln, indem die schon vorhandenen Zweige und Zweiganfänge in die Länge wuchsen und neue Zweige bildeten. Die Figg. 17 und 18 zeigen, wie sich zwei der verzweigten Gestalten allmählich in die größeren Mycelien verwandelten. Die hier abgebildeten Wachstumsstadien sind im Laufe von 4—5 Tagen von der Kultur in der Platte aus gewöhnlicher Fleischpeptongelatine in der Feuchtkammer abgezeichnet.

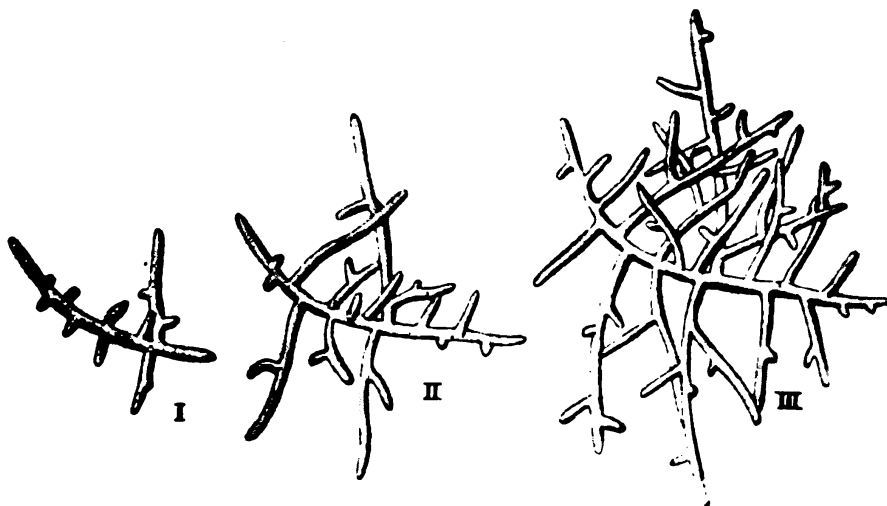


Fig. 18. Das gleiche wie auf der Fig. 17.

2*

Die Untersuchung der Mycelien mit Apochromaten, sowie auch das Färbungsverfahren ließ keine Septen in denselben konstatieren.

Gewöhnlich stellten die herangewachsenen Mycelien bald ihr Wachstum ein, vielleicht wegen der giftigen Stoffe, die von den umgebenden gewöhnlichen Zellen gebildet waren (da einige von den Oidien, wenn auch nicht viele, in die Platte mitgeraten waren). Zwei Mycelien, die ich vollständig zu isolieren vermochte, indem ich alle Tage die oben beschriebene Manipulation wiederholte, entwickelten sich dagegen zu sehr verzweigten und dichten Mycelien, welche so groß waren, daß sie schon nur dem mit der Lupe bewaffneten Auge sichtbar waren. Die ersten Entwicklungsstadien dieser Mycelien sind gerade auf den Figg. 17 und 18 abgebildet.

Während des 7. Tages der Kultur zerfielen die Mycelien beim Uebertragen in neue Gelatinetropfen in verzweigte und unverzweigte Zellen, die sich weiter in gewöhnlicher Weise zu vermehren begannen. Von einer der beiden Feuchtkammern wurden die Bakterien in Gelatineröhrchen eingepft und alsdann sehr lange (4 Monate) auf Fleischpeptonagar, gemischt mit 1 Vol. Eigelb, bei 6—8° C kultiviert. Die erhaltene, vom Mycelium stammende Kultur B, wurde von mir als Ausgangsmaterial für weitere Untersuchung verwendet. Die Bakterien, die von demselben stammten wiesen eine viel stärkere Neigung zur Zweigbildung und eine verzögerte Oidienbildung auf. Während in der Kultur auf Asparagindextrosegelatine (Fleischpeptongelatine mit 1,3 Proz. Asparagin und 2,3 Proz. Dextrose) die von der Kultur No. 17 der oben beschriebenen Versuche (Tabelle) geimpft war, das Zahlenverhältnis von verzweigten Zellen zu den unverzweigten ungefähr 1:120 war und am 4. Tage alle Stäbchen in Oidien zerfallen waren, wies die Kultur C, die von B geimpft war, auf gleichem Nährmedium und bei gleicher Temperatur das Verhältnis 1:22 und am 4. Tage nur sehr wenige Oidien auf.

Die meisten der verzweigten Zellen, die in der letzteren Kultur auftraten, trugen im Gegensatz zu den verzweigten Zellen der ersteren Kultur zwei bis mehrere Zweige; die Untersuchung der gefärbten Präparate zeigte dabei, daß diese verzweigten Bildungen unseptiert waren, daher kurze einzellige Mycelien darstellten (s. Fig. 19).

Von der Kultur C wurde am 5. Tage noch eine Kultur D mit gleichem Nährsubstrat geimpft. Das Verhältnis war 1:38; die Zweigbildung hatte also etwas abgenommen. Die Oidienbildung fand bei allen Zellen schon am 4. Tage statt; sie war also nicht so stark verzögert wie in der Kultur C. Die unseptierten verzweigten Bildungen in den Kulturen C und D erwiesen sich nun nicht dauerhaft. Die am 10. Tage von der Kultur C geimpfte Kultur E wies schon keine unseptierten Mycelien mehr auf, was sich auch auf die Kultur F bezog, die nach Verlauf von 10 Tagen von der Kultur D geimpft wurde.

Bei der fortgesetzten Kultur auf gleichem Nährmedium (Fleischpeptongelatine + 1,3 Proz. Asp. + 2,3 Proz. Dextrose) verschwand

die Fähigkeit der Bildung von kurzen unseptierten Mycelien und das Verhältnis wurde 1:150. Die Oidienbildung fand schon in den Kulturen E und F in normaler Weise statt (also am 3. Tage schon ein vollständiger Zerfall der Stäbchen). Die Fähigkeit der Bildung von kurzen unseptierten Mycelien war also, wenn auch erblich, doch nicht beständig, wegen geringerer Dauerhaftigkeit der Zellen, denen diese Fähigkeit innewohnte¹⁾.

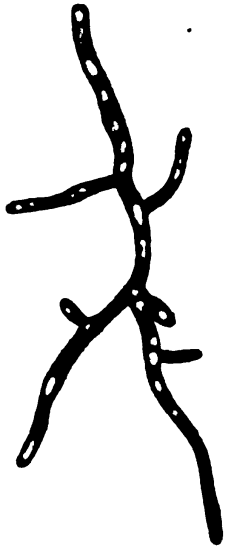


Fig. 19.

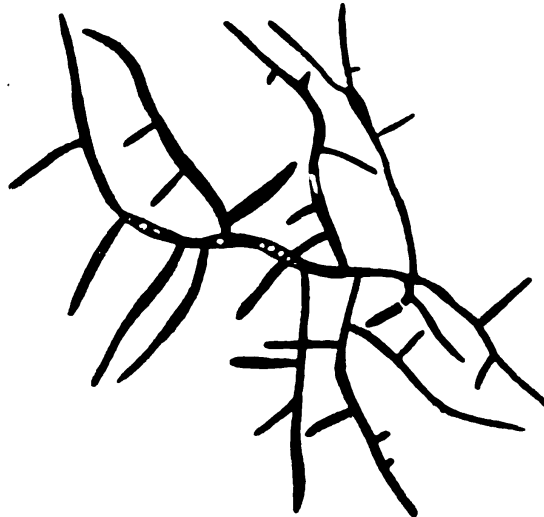


Fig. 20.

Fig. 19. Ein kurzes unseptiertes Mycel, mit Methylenblau gefärbt. Vergr. 3000.

Fig. 20. Ein größeres unseptiertes Mycel mit Methylenblau gefärbt. Vergr. 270.

Noch merkwürdiger erwiesen sich die Bakterien der Kultur B und der Kulturen, welche von derselben stammten, in den Feuchtkammern. Von 600—1200 Oidien (oder Stäbchen) eines jeden Bakterienquantums, das diesen Kulturen entnommen war, wuchsen 1—2 immer in größere Mycelien heran. Wie gefärbte Präparate zeigten, waren dieselben immer unseptiert (s. Fig. 20). Nachdem nun die Mycelien bestimmte Volumina erreicht hatten, hörten sie gewöhnlich zu wachsen auf. Dieser Umstand wurde vielleicht durch giftige Stoffe verursacht, die von den umgebenden Zellen ausgeschieden waren. Doch konnte ich nach dem Uebertragen der Mycelien in frisches Nährsubstrat vielfach die weitere Entwicklung der in ihrer Umgebung liegenden Stäbchen beobachten, während die Mycelien selbst ganz unverändert blieben. Die sorgfältige Untersuchung zeigte aber, daß die letzteren keine Zeichen des Absterbens aufwiesen. Nur bei langem (14—20 Tage) Verweilen zwischen den Kolonien (in Feuchtkammern) der gewöhnlichen Zellen wurden Mycelien allmählich zuerst sehr lichtbrechend (hell) und dann verloren sie ihren Inhalt gänzlich, wobei verschiedenartige Zerfallphasen zum Vorschein kamen; man konnte z. B. vielfach kleine Körnchen beobachten, die allmählich aus den Zellen

1) Nach Verlauf von 10 Tagen erwiesen sich die kurzen unseptierten Mycelien, auch in Feuchtkammern untersucht, als wachstumsunfähig.

heraustraten und später verschwanden. Am Zerfallende waren die Mycelien kaum zu sehen, so schwach lichtbrechend waren sie. Man kann daher kaum daran zweifeln, daß die Mycelien zuerst nur ihr Wachstum einstellen, jedoch am Leben bleiben. Vielleicht würde es gelingen, dieselben auch zum Wachstum zu bringen, wenn die gewöhnlichen Zellen gänzlich entfernt würden. Das letztere ist mir aber bis jetzt noch nicht gelungen.

Das Auftreten der Mycelien fand immer statt, ganz unabhängig davon, welches Substrat der Bakterie zur Verfügung stand. Die bessere Ernährung scheint keinen Einfluß auf die Mycelbildung zu haben; dies bezieht sich auch auf die Temperaturveränderung.

Da die Fähigkeit der Mycelbildung nur denjenigen Zellen innewohnte, die von der Ausgangskultur B stammten, läßt es sich vermuten, daß dieselbe erblich ist. Da weiter die Mycelbildungsfähigkeit ganz unerwartet ohne einen Bedingungswechsel bei Bac. Berestnewi entstanden war, konnte man sie als eine Neubildung ansehen.

In dem Bac. Berestnewi scheinen wir es dementsprechend mit einem weiteren Umbildungsstadium der Bakterie in einen unseptierten, sowie auch einen septierten mycelialen Pilz zu tun zu haben, dessen erstes Umbildungsstadium Bac. cohaerens darstellen dürfte.

Die Untersuchung wird fortgesetzt.
St. Petersburg, März 1904.

Nachdruck verboten.

Gärung und Atmung verschiedener Hefearten in Rollkulturen.

[Aus dem botanischen Laboratorium von Prof. W. Palladin
in der Frauenhochschule zu St. Petersburg.]

Von Marie Leschtsch.

Mit 3 Figuren.

(Schluß.)

Versuch 11.

S. Pombe. Künstlich hergestelltes Nährsubstrat + 9% Raffinose.
Anfang des Versuchs 30. Dezember, Ende 3. Januar.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	30. Dez.	2 Std.	10,6	5,3	19–20°
"	30. "	2 "	11,4	5,7	20–20 $\frac{1}{2}$ °
Wasserstoff	30. "	$1\frac{1}{2}$ "	—	—	—
"	30. "	2 "	14	7	20°
"	30. "	2 "	14	7	20–19°
"	30. "	2 "	12,8	6,4	19–20°
"	30. "	13 "	—	—	—
"	31. "	2 "	12,6	6,3	17°
"	31. "	4 "	24	6	17°
Luft	31. "	2 $\frac{3}{4}$ "	16,2	5,9	17°

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	31. Dez.	16 $\frac{1}{4}$ Std.	—	—	—
"	1. Jan.	1 $\frac{1}{2}$ "	9,4	6,3	—
"	1. "	2 "	11,4	5,7	17 $\frac{1}{2}$ °
"	1. "	1 "	7,2	7,2	18°
"	1. "	18 $\frac{1}{2}$ "	—	—	—
"	2. "	1 $\frac{1}{2}$ "	7,4	4,9	16°
"	2. "	1 $\frac{1}{2}$ "	—	—	—
"	2. "	2 $\frac{1}{2}$ "	10,2	4,1	16—18°
"	2. "	3 "	12,4	4,1	18—20°
"	2. "	17 "	—	—	—
"	3. "	7 "	18,8	2,9	16 $\frac{1}{2}$ —19°

Versuch 12.

S. Pombe. Künstlich hergestelltes Nährsubstrat + 9% Raffinose.
Anfang des Versuchs 30. Dezember, Ende 3. Januar.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	30. Dez.	2 Std.	8,2	4,1	19—20°
"	30. "	2 "	8,6	4,3	20—20 $\frac{1}{2}$ °
Wasserstoff	30. "	1 $\frac{1}{2}$ "	—	—	—
"	30. "	3 $\frac{1}{2}$ "	15,8	4,5	20 $\frac{1}{2}$ —20°
Luft	30. "	1 $\frac{1}{2}$ "	—	—	—
"	30. "	2 "	9	4,5	19—20°
"	30. "	13 "	—	—	—
"	31. "	2 "	7,8	3,9	17°
Wasserstoff	31. "	1 $\frac{1}{2}$ "	—	—	—
"	31. "	3 $\frac{1}{2}$ "	13	3,7	17°
Luft	31. "	1 $\frac{1}{2}$ "	—	—	—
"	31. "	2 $\frac{1}{4}$ "	8,6	3,8	17°
"	31. "	17 $\frac{1}{4}$ "	—	—	—
"	1. Jan.	3 "	11,4	3,8	17—18°
Wasserstoff	1. "	1 $\frac{1}{2}$ "	—	—	—
"	1. "	4 "	12	3	18°
"	1. "	15 $\frac{1}{2}$ "	—	—	—
"	2. "	1 $\frac{1}{2}$ "	6,8	4,5	16°
Luft	2. "	1 $\frac{1}{2}$ "	—	—	—
"	2. "	2 $\frac{1}{2}$ "	9,4	3,7	16—18°
"	2. "	3 "	13,4	4,5	18—20°
"	2. "	17 "	—	—	—
"	3. "	7 "	20,8	2,9	16 $\frac{1}{2}$ —19°

Aus den Versuchen 9 und 11 ist es ersichtlich, daß bei S. Pombe auf der Raffinose nach einem Verbleiben in Wasserstoff die Energie des Atmens in der Luft sich steigert; bemerkenswert ist der Umstand, daß zu Anfang auch der Wasserstoff die Ausscheidung von Kohlensäure zu fördern scheint. Ein kurzes Verbleiben (Versuch 12) im Wasserstoff bleibt auf die Energie des Atmens ohne wesentlichen Einfluß; vielleicht ist gerade darauf die Steigerung zurückzuführen.

In den folgenden Versuchen wurde eine interessante Hefearasse, *S. membranaefaciens*, untersucht. Bekannt ist, daß

S. membranaefaciens eine ganz aërobe Hefe ist, die auf der Oberfläche der Flüssigkeit wächst und keine Alkoholgärung hervorruft.

Versuch 13.

S. membranaefaciens. Nährsubstrat: Pflaumendekokt. Anfang des Versuchs 23. November, Ende 29. November.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	23. Nov.	15 Std.	28,2	1,9	18°
"	24. "	2 ¹ / ₂ "	12,6	6,6	18—19 ¹ / ₂ °
"	24. "	2 ¹ / ₂ "	20,4	—	19 ¹ / ₂ —20°
"	24. "	3 ³ / ₄ "	—	—	—
"	24. "	2 "	17,2	10,5	20°
"	24. "	1 ¹ / ₂ "	18,6	—	20°
"	24. "	25 Min.	—	—	—
"	24. "	1 ¹ / ₂ Std.	15	10	20—19 ¹ / ₂ °
"	24. "	14 ¹ / ₂ "	—	—	—
"	25. "	2 "	15,6	11,0	16 ¹ / ₂ —20°
"	25. "	1 ¹ / ₂ "	21,4	—	20°
"	25. "	1Std. 5Min.	—	—	—
"	25. "	2 Std.	19,6	10,8	20°
"	25. "	1Std. 35Min.	18,8	—	20—19 ¹ / ₂ °
"	25. "	1 " 10 "	10,8	9,2	19°
"	25. "	15 " 40 "	—	—	—
"	26. "	1 ¹ / ₂ Std.	9,4	6,27	18 ¹ / ₂ °
"	26. "	1Std. 5Min.	—	—	—
"	26. "	2 ¹ / ₂ Std.	17,8	7,1	19 ¹ / ₂ °
"	26. "	18Std. 55Min.	—	—	—
"	27. "	2 Std.	12,4	7,6	19 ¹ / ₂ °
"	27. "	2 "	18	—	19 ¹ / ₂ °

Die erhaltenen Resultate sind abgebildet auf der Kurve *a*, Fig. 3.

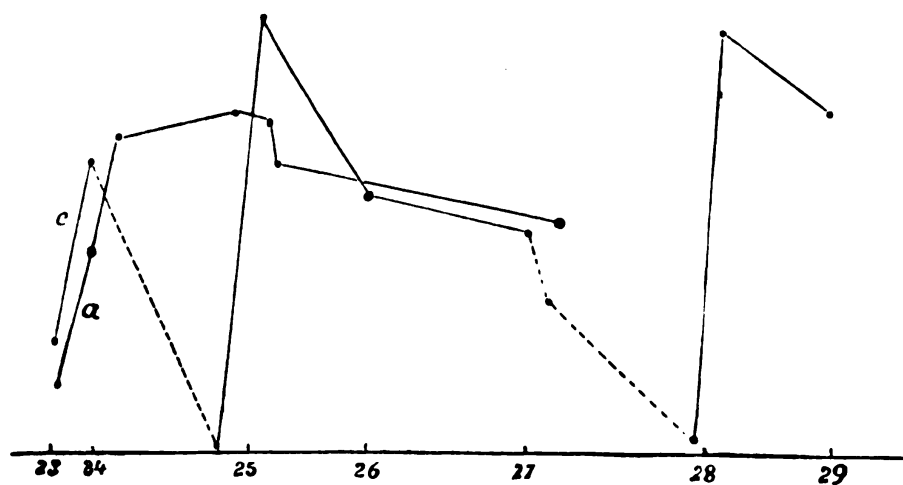


Fig. 3.

Versuch 14.

S. membranaefaciens. Nährsubstrat Pflaumendekokt. Anfang des Versuchs 23. November, Ende 29. November.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	23. Nov.	15 $\frac{1}{4}$ Std.	53,2	3,49	18°
"	24. "	2 $\frac{1}{4}$ "	—	—	—
"	24. "	2 $\frac{1}{2}$ "	24,0	9,6	19—20°
Wasserstoff	24. "	2 $\frac{1}{4}$ "	—	—	—
"	24. "	20 "	6,8	0,34	20—16°
Luft	25. "	1 $\frac{1}{2}$ "	—	—	—
"	25. "	2 "	17,8	8,9	17—19 $\frac{1}{2}$ °
"	25. "	2 "	22,2	11,1	19 $\frac{1}{2}$ —20°
"	25. "	2 "	23,6	11,8	20°
"	25. "	1Std.35Min.	22,4	14,15	20—19 $\frac{1}{2}$ °
"	25. "	1 " 10 "	14,6	12,5	19°
"	25. "	15 " 40 "	—	—	—
"	26. "	1 $\frac{1}{2}$ Std.	13,0	8,6	18 $\frac{1}{2}$ °
"	26. "	1Std. 5Min.	—	—	—
"	26. "	2 $\frac{1}{2}$ Std.	19,4	7,7	19 $\frac{1}{2}$ °
"	26. "	18Std.55Min.	—	—	—
"	27. "	2 Std.	14,4	7,2	19 $\frac{1}{2}$ °
Wasserstoff	27. "	2 $\frac{1}{4}$ "	—	—	—
"	27. "	1Std.50Min.	9,2	5,0	19 $\frac{1}{2}$ °
"	27. "	23 " 55 "	10,6	0,44	19°
Luft	28. "	55 "	—	—	—
"	28. "	2 Std.	14,8	7,4	18 $\frac{1}{2}$ °
"	28. "	1 "	13,8	13,8	18 $\frac{1}{2}$ °
"	28. "	1 $\frac{1}{2}$ "	17,4	11,6	18°
"	28. "	13Std.10Min.	—	—	—
"	29. "	2 "	14,4	7,2	16—17°
"	29. "	2 "	22,6	11,3	17—17 $\frac{1}{2}$ °
"	29. "	2 "	18,8	9,4	17 $\frac{1}{2}$ °
"	29. "	2 $\frac{1}{4}$ "	26,6	11,8	17 $\frac{1}{2}$ °

Die erhaltenen Resultate sind abgebildet auf der Kurve c, Figur 3.

Versuch 15.

S. membranaefaciens. Künstlich hergestelltes Nährsubstrat + 8,55 Proz. Saccharose. Anfang des Versuchs 30. November, Ende 3. Dezember.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	30. Nov.	2 Std.	11,8	5,9	19—18°
"	30. "	13Std.40Min.	—	—	—
"	1. Dez.	3 $\frac{1}{4}$ Std.	18,0	5,5	17—18°
"	1. "	2 "	13,0	6,5	18°
"	1. "	42Std.35Min.	—	—	—
"	3. "	49 Std.	15,2	0,3	—

Versuch 16.

S. membranaefaciens. Künstlich hergestelltes Nährsubstrat + 8,55 Proz. Saccharose. Anfang des Versuchs 30. November, Ende 4. Dezember.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	30. Nov.	2 Std.	9,0	4,5	19—18°
"	30. "	13Std. 40Min.	—	—	—
"	1. Dez.	1 1/2 Std.	11,6	7,7	17—17 1/2°
Wasserstoff	1. "	1 1/2 "	—	—	—
"	1. "	2 "	7,6	3,8	18—19°
"	1. "	44 "	14,8	0,33	19°
Luft	3. "	40 Min.	—	—	—
"	3. "	2 Std.	17,8	8,9	18 1/2—19°
"	3. "	2Std. 5Min.	18,6	8,9	19—18°
"	3. "	2 1/2 Std.	15,4	6,8	18°
"	4. "	16Std. 50Min.	—	—	—
"	4. "	25 Std.	15,6	0,6	17°

Versuch 17.

S. membranaefaciens. Künstlich hergestelltes Nährsubstrat + 9 Proz. Raffinose. Anfang des Versuchs 15. Januar, Ende 18. Januar.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	15. Nov.	3 1/2 Std.	11,8	3,3	21—20°
"	15. "	3 1/2 "	14,4	4,1	20 1/2°
"	15. "	15 1/2 "	—	—	—
"	16. "	5 "	20,0	4,0	20—19°
"	16. "	3 1/4 "	9,6	2,9	19—18°
"	16. "	15 "	—	—	—
"	17. "	9 1/2 "	15,8	1,6	18 1/2—17°
"	17. "	20 3/4 "	—	—	—
"	18. "	4 1/4 "	6,2	1,3	19°

Versuch 18.

S. membranaefaciens. Künstlich hergestelltes Nährsubstrat + 9 Proz. Raffinose. Anfang des Versuchs 15. Januar, Ende 18. Januar.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	Temperatur
Luft	15. Jan.	3 1/2 Std.	8,8	2,5	21—20 1/2°
Wasserstoff	15. "	1 1/2 "	—	—	—
"	15. "	3 "	5,6	1,9	20 1/2—18 1/2°
"	15. "	15 1/2 "	6,4	0,2	18 1/2—20°
Luft	16. "	35 Min.	—	—	—
"	16. "	2 Std.	8,2	4,1	20°
"	16. "	2Std. 25Min.	10,8	4,4	20—19°
"	16. "	3 1/4 Std.	14,2	4,4	19—18°
"	16. "	15 "	—	—	—
"	17. "	3 "	9,0	3,0	18 1/2°
Wasserstoff	17. "	3 1/4 "	—	—	—
"	17. "	23 3/4 "	6,6	0,27	16°
Luft	18. "	1 1/2 "	—	—	—
"	18. "	2 1/2 "	10,0	4,0	18—19°
"	18. "	4 1/2 "	12,0	2,6	19°

Die Versuche mit *S. membranaefaciens* bestätigen die von W. Palladin am *Chlorothecium saccharophilum* gewonnenen Ergebnisse. Es ist anzunehmen, daß diese Steigerung der Energie des Atmens nach Ersetzung des Wasserstoffes durch die Luft nur den aëroben Organismen eigentümlich ist.

Auf Grund der beschriebenen Versuche kommt man zu folgenden Ergebnissen:

1) Rücksichtlich des Prozesses der Ausscheidung von Kohlensäure in Rollkulturen auf Gärungssubstraten in der Luft und in sauerstofffreier Atmosphäre zerfallen die Heferassen in drei Typen. Die Vertreter dieser drei Typen sind *Saccharomyces cerevisiae*, *S. Pombe* und *S. membranaefaciens*.

2) *Saccharomyces cerevisiae* scheidet auf dem Gärungssubstrat in den ersten zwei Tagen fast gleiche Mengen von Kohlensäure aus, ganz unabhängig davon, ob der Prozeß in Wasserstoff oder in der Luft vor sich geht. Die Kurve steigt in beiden Fällen rasch empor und dann hört die Entwicklung der Kohlensäure viel eher im Wasserstoff als in der Luft auf. Die Zufügung von Luft nach dem Wasserstoff ruft für kurze Zeit eine gesteigerte Entwicklung von Kohlensäure hervor.

3) *S. Pombe* auf dem Gärungssubstrat scheidet in der Luft bedeutend mehr Kohlensäure aus als im Wasserstoff. In der Luft steigt die Kurve rasch empor und sinkt dann ziemlich schnell. Im Wasserstoff beobachtet man dagegen ein sehr unbedeutendes Steigen und dann ein langsames Sinken der Kurve. Die Zufügung von Luft nach dem Wasserstoff ruft auch in diesem Falle für kurze Zeit eine verstärkte Ausscheidung von Kohlensäure hervor. Der verschiedene Entwicklungsgang von Kohlensäure in sauerstofffreier Atmosphäre bei *S. cerevisiae* und *S. Pombe* erklärt sich dadurch, daß *S. Pombe* in sauerstofffreier Atmosphäre sich viel schlechter vermehrt als *S. cerevisiae*.

4) Die rasche Steigerung der Menge der entwickelten Kohlensäure auf Gärungssubstraten sowohl bei *S. Pombe*, als auch bei *S. cerevisiae* zeigt, daß es in beiden Fällen eine typische Gärung bei vollem Zutritt der Luft war. Die gewonnenen Ergebnisse stimmen also mit denjenigen von Iwanowski, H. Buchner, Richter, Wosnessensky und Elisseeff vollkommen überein.

5) Bei *S. Pombe* beobachtet man auf der Raffinose bezüglich der entwickelten Kohlensäure zunächst ein unbedeutendes Steigen der Kurve, dann ein langsames Sinken derselben. In diesem Falle hat also eine Gärung nicht stattgefunden. Diese Ergebnisse entsprechen denjenigen von Kollegorsky und Zassouchine¹⁾; sie ermittelten bei *S. cerevisiae* auf der Raffinose $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} < 1$.

6) *S. membranaefaciens* ist ein typischer Aërobe. Die Entziehung des Sauerstoffes bewirkt eine starke Verminderung der Menge der ausgeschiedenen Kohlensäure. Bei Ersetzung des

1) Kollegorsky et Zassouchine. Centralblatt f. Bakteriologie. 2. Abt. 1903. p. 95.

Wasserstoffes durch die Luft wird die Menge der Kohlensäure rasch erhöht und übertrifft manchmal die Menge der in der Luft entwickelten ganz bedeutend. Diese verstärkte Ausscheidung von Kohlensäure dauert nicht lange und die Menge der Kohlensäure beginnt dann allmählich sich zu mindern. Wir bekommen hier also dasselbe Bild, das Palladin¹⁾ bezüglich des *Chlorothecium saccharophilum* beschrieben hat.

Nachdruck verboten.

Bacterium teutlium sp. nov.

By Dr. **Haven Metcalf,**

Professor of Botany, Clemson A. & M. College, South Carolina, U. S. A.

A short rod, without flagella or capsule: average size 1,5 by 0,8 μ , maximum 2,2 by 1 μ , minimum 0,8 by 0,5 μ ; not varying noticeably in size on different media. Single rods and diplo-rods most common, except in cane-sugar gelatine, cane-sugar agar, and cane-sugar liquid media containing chalk, where chains of fifty or more elements occur. No spores. No noteworthy involution forms. No pigment. Readily stained with anilin stains and Gram's stain.

In tubes of steamed sugar beet, copious, viscid growth over the surface, clear or translucent; also penetrating the beet tissue and forming characteristic cavities inside. Similar but weaker growth on steamed garden beet. Weak superficial growth in tubes of old potato, carrot, sweet potato, salsify, parsnip, and banana. No growth in tubes of sugar beet leaf, sugar beet petiole, turnip, radish, tomato, cocoanut, apple, orange.

In Petri dishes of standard meat-peptone-agar slow weak limited growth: submerged colonies fusiform, of sharp outline, porcelaneous; surface colonies round, thin, translucent, not viscid, with entire margin, thick in center, granular near edge, seldom more than 0,5 mm in diameter. In streak cultures, slightly viscid growth in water of condensation, tending to penetrate the substratum; on slant surface thin growth similar to surface colonies on plate, margin undulate; or no growth if surface is at all dry. In stab cultures, a filiform line, gradually becoming minutely beaded, 0,5 mm in diameter, equal at bottom and top. On peptone agar made from Liebig's extractum carnis, no growth. In stab cultures of peptone agar made from Liebig's extract with 5 % of cane sugar, the line of growth, at first filiform, thickens rapidly, while a number of flame like outgrowths penetrate to the wall of the tube, ultimately involving practically all of the medium. Wherever the growth extends, the medium becomes fluid, somewhat thicker than glycerin; and colorless, whatever its original color may have been. If any growth takes place at the top of the stab, it is in the form of a single drop of viscid fluid; no growth occurs there, unless the medium is perfectly fresh and moist. Streak

1) Palladin, Centralblatt f. Bakteriologie. 2. Abt. 1903. p. 146.

cultures exhibit a white growth in the water of condensation, which liquefies the medium for a short distance below. On the slant surface, no growth, unless the medium is perfectly fresh, when droplets of viscid translucent fluid form along the line of inoculation. In beet juice agar, essentially the same growth as in 5% sugar agar.

In Petri dishes of standard meat-peptone-gelatine, limited growth: submerged and surface colonies more opaque, but otherwise similar to those on the corresponding agar. No surface colonies except in perfectly fresh gelatine. In stab cultures a thin beaded dirty white line, little or no growth on surface. On pepton gelatine made from Liebig's extract, no growth; in stab cultures of this medium with the addition of 5% of cane sugar, a heavy, cumuloid, porcelaneous to translucent growth, 0.5 to 1 cm or more in thickness, not viscid, but when removed by melting the gelatine, crisp and coherent. In beet juice gelatine, essentially the same growth. No liquefaction of gelatine under any circumstances.

In Smith's nutrient starch jelly No. 1, no growth: in egg albumen, no growth: in Löffler's blood serum, slight dirty white growth in water of condensation.

In standard meat-pepton-bouillon, scarcely perceptible clouding. In the same bouillon freed from muscle sugar by inoculation with *B. coli*, no growth. In peptone bouillon made from Liebig's extract, no growth. In this bouillon with the addition of 5% of cane sugar, heavy, slightly viscid growth, producing in three days nearly complete opacity; slight sediment, not clearly separated from the fluid above, which never clears. In broths prepared from sugar beets and from old carrots, essentially the same growth; in potato broth, very slight growth.

In milk, no growth; in milk with saccharose, enough growth to cause coagulation upon boiling. In Uschinsky's solution, in Fermi's solution and in Fraenkel's solution, no growth; in each solution with the addition of saccharose, faint dimming of medium. In Pasteur's solution with and without cane sugar, no growth. In Dunham's solution, no growth. In 1% peptone solutions with 1% of laktose, maltose, dextrin, mannite, laevulose, galactose, or glycerine, no growth. In the same solution with 1% of saccharose or dextrose very faint and variable growth. No pellicle or surface film of any sort on any liquid medium.

In sugar beet broth, titrating + 2.3%, the thermal death point lies between 44° and 46° C — probably very near 45° C. Maximum temperature at which growth takes place, 32° C. Minimum 3° C, not harmed by prolonged freezing. Optimum temperature, near 17° C. Eighteen minutes exposure to full sunlight fatal. Exceedingly sensitive to dessication. A facultative anaerobe. Vigorous growth in closed end of fermentation tubes of bouillon made from Liebig's extract, with the addition of saccharose; weak growth in similar tubes with dextrose and maltose. No gas produced in any medium. Faint odor of acetic acid on most media.

Produces acid in all media in which it grows. Inverts cane sugar. Not sensitive to alkalies or acids.

Isolated from sugar beets affected with a characteristic soft rot, of which the bacterium is itself the cause, as proved by many inoculations. Occurs in Nebraska, Colorado, Texas and Arizona, U. S. A. Apparently one of a group of related soil bacteria, some of which have been isolated from the soil and from decaying sugar beets.

A preliminary account of this rot of sugar beets has already been published [Hedgcock, G. G. and Metcalf, H., Eine durch Bakterien verursachte Zuckerrübenkrankheit. (Zeitschr. f. Pflanzenk. Bd. XII. 1903. Heft 6. p. 321)]. The detailed account of the rot, with illustrations, and a full discussion of the experiments on which this designation of species is based, is expected to appear in the forthcoming (seventeenth) Annual Report of the Agricultural Experiment Station of Nebraska, U. S. A.

Nachdruck verboten.

Sur l'obtention de lait cru stérile.

Par les Drs. **H. De Waele, E. Sugg et A. J. J. Vandeveldé** (Gand).

La préparation de lait de vache cru stérile n'a guère été tentée dans la technique bactériologique.

En clinique cependant la question a été soulevée de divers côtés. Depuis peu l'emploi de lait cru stérile a été présenté comme un idéal à atteindre dans le traitement de la dyspepsie chronique des nourrissons; sa supériorité sur le lait stérilisé ou pasteurisé est en effet évidente: la caséine et l'albumine ne sont pas modifiées et les enzymes dont Neumann-Wender (1), J. K. Friedjung et A. F. Hecht (2), L. Reinhardt (3) et E. Moro (4), ont fait connaître la diversité dans le lait des divers animaux, sont maintenues.

Willem et Miele (5) ont prétendu avoir obtenu du lait cru stérile en soumettant les vaches, surtout au moment de la traite à des soins spéciaux d'asepsie. Toutefois ils constatent eux-mêmes que parfois il se développe dans lesensemencements 1—3 colonies pour 2 à 5 cc de lait. Nous avons pu constater que les résultats que donnent ces procédés sont inconstants.

Récemment divers auteurs ont démontré que les seuls soins de propreté ne pouvaient conduire à l'obtention de lait cru stérile.

Uhlmann (6) a établi par des coupes microscopiques que le canal papillaire normal contient des microcoques et des bacilles dans toute sa longueur. Lux (7) a étudié en détail la teneur en bactéries du lait fraîchement trait et décrit toute la flore bactérienne qui s'y rencontre normalement, même malgré l'emploi de récipients stériles.

L'emploi d'antiseptiques peut évidemment conduire à la stérilisation du lait, mais il présente des inconvénients tant au point de vue de l'alimentation que de son emploi dans la technique bactério-

logique. Cependant Behring (8) prétend que l'addition de formoline (1:5000 à 1:10000) — c'est à dire une dose qui empêche le développement des microbes, — n'altère pas la saveur du lait et ne produit aucune modification dans les propriétés des substances albuminoïdes.

On a également préconisé l'emploi de l'eau oxygénée pour la conservation du lait afin d'en faciliter le contrôle et l'analyse chimique, mais au point de vue alimentaire la saveur est notablement altérée.

Renard (9), ainsi que Nicolle et Ducloux (11) estiment qu'une petite quantité d'eau oxygénée ajoutée au lait est spontanément décomposée et que cette quantité, insuffisante pour la stérilisation, assure néanmoins la conservation momentanée. D'ailleurs un réliquat d'eau oxygénée n'exclut pas, ce produit d'après eux, de l'alimentation.

Budde (10) avance la même opinion, et prétend que le lait décompose complètement l'eau oxygénée qu'on y introduit. Cette conclusion ne concorde nullement avec les constatations de Chick ni avec les nôtres.

Chick (12) a observé que cet antiseptique ne disparaît jamais totalement même par l'ébullition. Nous mêmes avons pu confirmer cette observation même quand nous avons traité le lait par de la soude caustique dont l'alcalinité est, comme on le sait, favorable à la décomposition spontanée de l'eau oxygénée.

L'emploi de l'eau oxygénée, au point de vue de la technique bactériologique, ne peut donc être pratique qu'à la condition de débarrasser totalement le lait, après la stérilisation, de toute l'eau oxygénée qui y a été introduite.

Nous avons utilisé à cet effet la propriété catalytique que Loew (13) a découverte dans les tissus et les liquides organiques et en particulier dans le sang (Senter; 15), et qui a déjà fait l'objet de recherches de l'un de nous (Vandeveldde; 14).

Nous ne nous étendons pas ici sur l'étude chimique et biologique de cette propriété que nous poursuivons actuellement et qui fera l'objet d'une communication prochaine.

Nous voulons ici signaler qu'après le laquage du sang et le passage du liquide à travers une bougie de Chamberland on obtient un filtrat stérile présentant comme le sang des propriétés catalysantes intenses. Il est aussi pratique de se servir de ce filtrat nécessairement stérile que d'employer du sang non transformé dont la récolte stérile demande plus de précautions.

Une méthode suffisante pour la préparation de ce lait comme milieu de culture consiste dans l'emploi de sang défibriné, laqué, filtré sur 2 filtres de papier (pour le débarrasser des stromas des globules) et stérilisé par de la formoline de manière à amener la dose à 1‰ dans le liquide final. La faible quantité de ce liquide qui est introduite dans le lait amène une dilution de la formoline telle qu'elle se montre pratiquement négligeable.

On peut se servir aussi de liquides catalysants d'origine végétale.

Nous procédons donc comme suit: dans un vase stérile nous introduisons du lait frais et quand il s'agit spécialement de la préparation de milieux de culture nous préférons le lait centrifugé¹⁾ de manière à diminuer autant que possible la quantité de graisse; nous y ajoutons de l'eau oxygénée pure dosée de manière à obtenir dans le lait une concentration finale de 0,3 à 0,4 % d'eau d'oxygénée et nous laissons agir pendant trois à huit jours. Les deux premiers jours il se produit un dégagement gazeux par suite de la décomposition d'une partie de l'eau oxygénée. Puis, nous ajoutons le liquide catalysant, par exemple du sang laqué (1 volume de sang pour 2 volumes d'eau) à raison de $\frac{1}{10}$ à $\frac{2}{10}$ ccm pour 100 ccm de lait. Cette addition provoque un dégagement de gaz abondant. Dans les échantillons prélevés, après 24 à 48 heures, on peut s'assurer en traitant le filtrat du lait, coagulé par un peu d'acide sulfurique étendu, par de l'iodure de potassium et de l'empois d'amidon, que l'eau oxygénée a complètement disparu.

Le lait ainsi traité mis à l'étuve à 37° C pendant plusieurs jours ne montre aucun développement microbien; il en est de même des ensemencements faits en gélatine ou en gélose avec de petites quantités de ce lait.

Comme nous éliminons par notre procédé le réliquat d'eau oxygénée dont la présence a pu être une cause d'erreur dans les essais de culture de nos dévanciers, nos expériences mieux que celles-ci démontrent l'action microbicide de l'eau oxygénée.

Le liquide est donc stérile; par contre une fois que les conditions de conservation ne sont plus réalisées, ou bien lorsque des bactéries sont introduites dans le milieu, on ne tarde pas à constater que l'infection se produit comme dans le lait normal. Les essais de contrôle que nous avons faits dans ce sens ont donc démontré que l'action de l'agent bactéricide employé est totalement annihilée.

* * *

Le lait, ainsi rendu stérile, conserve indéfiniment. Toutefois il se produit, d'une façon lentement progressive une modification qui le rend un peu plus transparent. L'étude de cette modification, qui fera l'objet d'une publication spéciale, a montré que celle-ci porte sur la caséine et l'albumine, à l'encontre de l'opinion émise par Budde (9) qui prétend que la composition chimique ne change

1) A titre de document nous donnons l'analyse d'un lait mis en expérience (lait centrifugé C. 108).

Analyse chimique:

D 15°	=	1,031
Extrait	=	9,844 G. V. %
Cendres	=	0,689 G. V. %
Caséine	=	3,727 G. V. %
Lactose	=	4,693 G. V. %
Graisse	=	0,735 G. V. %

Analyse bactériologique: plaques de gélatine:

80 000 colonies par centimètre cube.

Beaucoup de colonies liquéfiantes, assez bien de Bact. coli.

pas. Il est vrai que les éléments constitutifs, autres que la caséine et l'albumine, c'est à-dire les sels, l'extrait, le lactose et la graisse ne varient pas; au point de vue quantitatif, les substances azotées totales restent constantes. Seules les quantités de caséine et d'albumine précipitables par les acides étendus diminuent notablement, tandis que la quantité de peptones augmente.

Il se produit donc une digestion partielle de la caséine et de l'albumine qui se continue même après l'élimination de l'eau oxygénée. Nous démontrons ailleurs qu'elle est due à un ferment protéolytique renfermé dans le lait et respecté par l'eau oxygénée (21).

Au point de vue pratique cette modification devient appréciable au bout de deux jours. Elle ne constitue nullement un désavantage, puisque c'est ce résultat que plusieurs auteurs notamment Volltmer, Backhaus, von Dungern (Pegnin) ont cherché à atteindre en introduisant dans le lait des ferments étrangers.

La coagulation par le lab est un peu plus lente ce qui est dû à la peptonisation partielle de la caséine; elle se fait en flocons plus fins et moins compacts que dans le lait de vache ordinaire.

Ce lait peut donc convenir très bien pour l'alimentation, spécialement du nourrisson. On peut lui faire subir au préalable les coupages et mélanges nécessaires pour cet usage.

* * *

Récemment Behring (8) a insisté sur l'importance du lait cru au point de vue de la conservation d'anticorps qu'il peut renfermer. Il nous faut donc envisager ce côté de la question.

Arloing et Troude (16) ont démontré que l'ozone, dont les propriétés oxydantes ont plus d'un point de contact avec celles de l'eau oxygénée, attaque vivement les toxines en même temps que les bactéries elles-mêmes.

Lieber (17) constate que l'eau oxygénée a une action destructive sur la toxine diphtérique (0,5 cc de H_2O_2 à 2% détruisent 10 à 100 doses mortelles pour le cobaye en 10—15 minutes, et 600 doses en quelques heures). L'action sur la toxine tétanique et sur l'abrine est analogue.

Dans un travail sur la réaction catalytique des filtrats des cultures en bouillon du bacille diphtérique et de staphylocoque, Löwenstein (18) signale que l'eau oxygénée altère la toxine tandis qu'elle n'agit pas sur l'antitoxine et qu'elle détruit également la toxine quand cette dernière est déjà liée à l'antitoxine. Löwenstein estime donc que les anticorps en général ne sont guère influencés par l'eau oxygénée.

L'étude de l'action de l'eau oxygénée sur les enzymes semble donc toute indiquée à la suite de cet exposé; elle a été faite par l'un de nous et elle paraîtra prochainement; elle montre que les enzymes ne sont pas altérées par cette substance, quelques-unes sont plutôt rendues plus actives.

Au point de vue donc des théories de Behring l'emploi de l'eau oxygénée pour la stérilisation du

lait cru est préférable à celui de la formaline proposé par cet auteur. Ajoutons d'ailleurs que Bliss et Novy (19) ont démontré l'action retardatrice de la formaline sur la plupart des enzymes, et que Trillat (20) a constaté que la caséine ayant subi le contact de la formaldéhyde est fortement insolubilisée, et qu'elle devient difficilement attaquable par le plupart des agents physiques et chimiques.

* * *

Le lait cru stérile préparé par le procédé que nous avons décrit est à peu près neutre, on peut en varier l'alcalinité par l'addition de soude.

Il convient admirablement comme milieu de culture soit pur, soit additionné à de l'agar à 3—4%, pour les espèces microbiennes les plus diverses.

Voici notamment ce que nos essais de culture en lait cru stérile nous ont permis de constater :

1) les différentes bactéries s'y développent, en général sans modifier le milieu;

2) le bacillus typhosus et le *Bacterium coli* s'y développent d'une façon sensiblement égale; le premier jour, le milieu ne change pas d'aspect, le deuxième jour il y a dans les deux cas un certain degré de gélatinisation, au troisième jour la masse tend à devenir plus grenue et à se sédimenter, le liquide surnageant, toujours opalescent, devient plus clair.

Le fait que le coli ne coagule pas ce lait doit probablement être attribué aux modifications subies par la caséine, auxquelles nous avons fait allusion plus haut. Une des méthodes de différenciation entre le coli et le typhosus repose précisément sur la coagulation. Le lait cru stérilisé par l'eau oxygénée ne doit donc pas remplacer le lait bouilli dans l'usage jusqu'ici le plus courant auquel est destiné le lait dans le laboratoire de bactériologie.

En somme notre lait cru stérile, au point de vue de ses propriétés, prend place en bactériologie à côté des milieux obtenus par l'addition de sérosité stérile au bouillon, et se montre comme ces derniers milieux préférable en maintes circonstances au bouillon simple.

Gand, 1^{er} juin 1904.

Bibliographie.

- 1) Neumann-Wender-Czernowitz, Die Enzyme der Milch. (Oest. Chem. Zeit. 1903. No. 1.)
- 2) Friedjung, J. K., et Hecht, A. F., Ueber Katalyse und Fermentwirkungen der Milch. (Arch. f. Kinderheilk. Bd. XXXVII. 1903. Heft 5/6.)
- 3) Reinhard, L., Die Bedeutung der Milch als Nahrungsmittel. (Prometheus. Bd. XV. 1904.)
- 4) Moro, E., Ueber die Fermente der Milch. (Jahrb. f. Kinderheilk. 1902.)
- 5) Willem et Miele, Procédé pour l'obtention du lait cru aseptique. (Comptes rend. du 13^e Congrès intern. d'hyg. Bruxelles 1902. T. III. p. 67—69.)
- 6) Uhlmann, Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXV. p. 224.

- 7) Lux, A., Ueber den Gehalt der frischgemolkenen Milch an Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XI. 1903. p. 195.)
- 8) Behring, Ber. d. Ver. f. innere Med. in Berlin. — Ref. in Münch. med. Wochenschr. 1904. p. 184.
- 9) Renard, A., La conservation du lait par l'eau oxygénée. (Mon. Scient. Quesneville, 1904. et Revue d'Hyg. et de police sanit. févr. 1904.)
- 10) Budde, C. C. L. G., En ny fremgangsmaade til sterilisering af moelk. Tideskrift for Laeger. 1903; Ref.: Rev. gén. du lait. T. III. 1904.
- 11) Nicolle, C., et Ducloux, E., Recherches expérimentales sur la conservation du lait. (Rev. d'Hyg. et de police sanit. févr. 1904.)
- 12) Chick, H., Sterilisierung von Milch durch Wasserstoffsuperoxyd. (Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. VII. 1901. p. 705.)
- 13) Loew, O., Catalase, a new enzym of general occurrence. (Bull. departm. agric. Washington 1901. Rep. No. 68. 47 pp.)
- 14) Van de Velde, A. J. J., et Leboucq, G., Over de verspreiding van de catalase in het menschelijk lichaam. (Handel VI. Nat. en Gen. Congres. 1901.) — Nieuwe onderzoekingen over de catalasereactie in physiologische vochten. (Ebenda. 1903.) — Sur la présence de la catalase dans les liquides physiologiques. (Ann. soc. méd. Gand 1901.) — Sur la signification physiologique de la catalyse de l'eau oxygénée. (Ebenda. 1903.)
- 15) Senter, G., Das Wasserstoffsuperoxyd-zersetzende Enzym des Blutes. (Zeitschr. phys. Chem., Bd. XLIV, 1903.)
- 16) Arloing et Troude, C. R. Société de Biologie, T. XX. 1903.
- 17) Sieber, Arch. sc. biol. T. IX. St. Pétersbourg 1903.
- 18) Löwenstein, Wien. klin. Wochenschr. 1903.
- 19) Bliss, C. L., et Novy, F. G., Action of Formaldehyde on Enzymes and on certain proteids. (The Journ. of exp. med. Vol. IV. 1899.)
- 20) Trillat, A., Action de la formaldehyde sur le lait. (C. R. Soc. Biologie, 1904. No. 11.)
- 21) Vandeveld, A. J. J., De Waele, H. et Sugg, E., Ueber proteolytische Enzyme der Milch. (Beiträge z. chem. Physiol. Hofmeister. 1904. p. 571.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Wasserröste des Flachses.

[Arbeit aus der Kgl. Bayer. Agrikultur-botanischen Anstalt.]

Von Dr. K. Störmer, München.

Die nachstehende Arbeit wurde mit ausführlicher Berücksichtigung der vorhandenen Literatur und ferner nebst einer die verschiedenen Formen der Flachsrröste behandelnden Einleitung als Dissertation der philosophischen Fakultät der Universität Leipzig vorgelegt und von dieser angenommen. Der Verf. glaubte sich für den Abdruck in dieser Zeitschrift auf die Wiedergabe des Teiles seiner Arbeit beschränken zu sollen, der die eigenen Untersuchungen betrifft, da sowohl die Literatur wie die verschiedenartigen Röstmethoden des Flachses von Prof. Behrens in seiner vor nicht allzulanger Zeit hier veröffentlichten Arbeit „Untersuchungen über die Gewinnung der Hanffaser durch natürliche Röstmethoden“¹⁾ ziemlich eingehend dargestellt worden sind. Auch das Referat einer inzwischen erschienenen neuen Veröffentlichung über die „Luftröste“ des Flachses²⁾ von L. Hauman, sowie die

1) Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. VIII. 1902. p. 114 ff.

2) L. Hauman, Etude microbiologique et chimique du rouissage aérobie du lin. Travail du laboratoire de botanique de l'Institut agricole de Gembloux. (Annales de l'Institut Pasteur. T. XVI. 1902. p. 379.)

Kritik einiger Hauptergebnisse dieser Arbeit seitens Prof. Behrens ¹⁾ finden sich in dieser Zeitschrift, weshalb sich ein Eingehen von meiner Seite auch auf diese neueren Veröffentlichungen hier erübrigt. Ich will nur bemerken, daß auch ich die Haumansche Behauptung, es seien die gewöhnlichen Bakterien der Luft und des Bodens (*Bact. coli*, *Bacillus mesent. fuscus*, *B. subt.*, *B. mycoides*, *Bacterium termo*, *B. fluorescens liquefaciens*, *Micrococcus roseus*, *Streptothrix Forsteri*) befähigt, die Röste hervorzurufen, mit einigen der genannten Arten und ferner mit einer in der Röstflüssigkeit sehr gewöhnlich auftretenden Oidium-Art unter verschiedenen Bedingungen nachprüfte, ohne auch nur jemals ein positives Resultat zu erzielen. Mindestens für die Wasserröste muß ich demnach jene Behauptung für nicht zutreffend erklären und gleich Prof. Behrens zu dem Schlusse kommen, daß Hauman das Opfer einer Täuschung infolge ungenügender Sterilisation der Flachsstengel wurde. Welche wichtige mehr indirekte Rolle aber einige gewöhnlichere Bakterien und Pilzarten in der Wasserröste des Flachses als sog. Nebenorganismen spielen, wird in dieser Arbeit noch ausführlich darzulegen sein.

In Anbetracht der nicht ganz leichten Entscheidung darüber, ob Organismen die Fähigkeiten zu rösten besitzen oder nicht, soll von meiner Seite allerdings nicht geleugnet werden, daß gewöhnliche Organismen der Luft und des Bodens bei massenhafter Entwicklung auf Hanf- oder Flachsstengeln durch Ammoniakentwicklung etc. eine gewisse Erweichung der Gewebe verursachen können. Allein dieser Vorgang darf mit der echten Röste nicht verwechselt werden. Aber gerade diesen Umstand scheint Hauman nicht beachtet zu haben, und schon Behrens sah sich in seiner Erwiderung ²⁾ diesbezüglich zu der Bemerkung veranlaßt, daß Hauman „zwei verschiedene Fragestellungen nicht genügend auseinander gehalten habe, die Frage, welche Organismen die Fähigkeit, Interzellulärsubstanz zu lösen, besitzen, welche Organismen also unter künstlichen Bedingungen, wo ihre Entwicklung gesichert und Konkurrenz ausgeschlossen wird, überhaupt im stande sein würden, Rotte hervorzurufen, und die andere, welche Organismen denn nun in Wirklichkeit bei dem typischen Rotteprozeß der Praxis sich beteiligen“.

Daß nur die letztere Frage von wirklich praktischem Interesse ist, bedarf keiner Beteuerung, denn was wäre mit dem Nachweis erreicht, daß solche Organismen, wie der *Bacillus* der Weichfäule der Möhren, der Erreger der Schwarzbeinigkeit bzw. Weichfäule der Kartoffeln, der Organismus der Hyazinthenweißfäule u. a. m., die alle die Fähigkeit besitzen die Mittellamellensubstanz aufzulösen, auch die Hanf- resp. die Flachsrinde zerlegen können.

Den vorliegenden Untersuchungen wurde daher der Plan untergelegt, zur Gewinnung des oder der wirklichen Rösteerreger

1) J. Behrens, Ueber die Taurotte von Flachs und Hanf. (Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XI. 1903. p. 524.)

2) Behrens, a. a. O.

der Wasserröste des Flachses von dem Rohmaterial einer Flachsrrösteanstalt auszugehen, wo sich der zu studierende Prozeß täglich in größtem Maßstab abspielt, und wo deshalb die wirkungsvollste Anreicherung der betreffenden Organismen stattgefunden haben mußte; denn nur so konnte man einigermaßen sicher der Gefahr entgehen, irgend einen der zweifellos zahlreichen Amylobacter-ähnlichen Organismen, die vielfach die Fähigkeit besitzen die Röste herbeizuführen und deren widerstandsfähige Sporen dem geernteten Flachs bzw. Hanf anhaften, bei den Anreicherungsverfahren in den Vordergrund zu drängen und den eigentlichen Erreger damit zu unterdrücken.

Es mußte mir auch noch aus einem anderen Grunde daran liegen den wirklichen Rösteerreger, als welcher der bei der technischen Wasserröste tätige bezeichnet sein mag, zu gewinnen. Die Tatsache, daß die Güte der Gespinnstfasern nicht zum wenigsten von der Art und dem Verlauf der Röste abhängt, wird in technischen Kreisen voll gewürdigt. Ganz abgesehen von den Landrösten und jenen Wasserrösten, die in Flüssen ausgeübt werden, mußte besonders erstrebt werden die in den Röstanstalten fast ausschließlich angewandte Warmwasserröste zu verbessern; denn jene Anstalten müssen mit großen Mitteln errichtet werden und lohnen diesen bei den natürlichen Rösten von vornherein wegfallenden Aufwand nur, wenn alsdann die dort ausgeführte Röste schnell verläuft und ein möglichst hochwertiges Produkt erzielt wird. Das dies aber noch nicht in dem wünschenswerten Maße erreicht ist, wird bezeugt durch die Bemühungen aus jenen Kreisen, wissenschaftliche Untersuchungen über den Röstprozeß anzuregen, um dadurch zu weiteren Verbesserungen desselben zu gelangen.

Auch die vorliegenden Untersuchungen wurden durch solche Anregungen aus praktischen Kreisen veranlaßt. Der Sonderausschuß für Flachsbau der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft ließ durch das Direktorium dieser Gesellschaft eine Eingabe an den Herrn Staatssekretär des Innern einreichen, in welcher die Bitte ausgesprochen wurde, eine erneute wissenschaftliche Bearbeitung der Flachsrröste zu veranlassen. Diese Aufgabe wurde alsdann dem bakteriologischen Laboratorium der Biologischen Abteilung am Kaiserlichen Gesundheitsamt in Berlin zugewiesen und von dem derzeitigen Leiter desselben, Herrn Regierungsrat a. D. Dr. Hiltner, dem Verfasser zur Bearbeitung übergeben. Meine Dankbarkeit hierfür möchte ich ihm auch an dieser Stelle bezeugen; ich schulde sie Herrn Kgl. Direktor Dr. Hiltner ferner dafür, daß er mir auch in München, wo er die Leitung der neuerrichteten Kgl. Bayerischen Agrikulturbotanischen Anstalt übernahm, ermöglichte, den weitaus größten Teil der nachstehenden Untersuchungen auszuführen.

Das sich durch den erwähnten Antrag des Sonderausschusses für Flachsbau offenbarende besondere Interesse technischer Kreise an einer erneuten wissenschaftlichen Bearbeitung der Röste mußte nach alledem besonders dazu drängen, die gestellte Aufgabe so zu lösen, daß aus den Ergebnissen womöglich ein direkter praktischer Nutzen,

wenn auch nicht sofort, so doch im weiteren Verfolg der Sache, zu erwarten war. Inwieweit hierin die vorliegende Arbeit erfolgreich war, mag sich im Nachstehenden erweisen.

1) Mikroskopische Untersuchungen.

Die zahlreichen vegetabilischen Faserstoffe werden in den wenigsten Fällen von der Natur in einem Zustande geliefert, der ihre Verwendung direkt ermöglicht. Dies trifft in der Hauptsache nur bei den technischen Fasern zu, die den Pflanzenhaaren zugehören. Anders bei der großen Mehrzahl jener Fasern, die als Gefäßbündel, Gefäßbündelbestandteile und Gefäßbündelgruppen im Innern der Pflanze liegen. Bei diesen muß der technischen Verarbeitung die Gewinnung der Rohfaser vorausgehen, die im wesentlichen in einer Herauslösung des festen Faserstranges aus dem Gewebeverbande besteht.

Sowohl die Fasern des Flachses als auch die des Hanfes, wie beiläufig erwähnt sei, sind Gefäßbündelbestandteile des Stengels und zwar bekanntlich die Bastbündel, Bastbelege oder Baststränge des Phloënteils der Gefäßbündel. Diese Baststränge haben im Gegensatz zu den übrigen Bestandteilen des Siebteils, die der Ernährung dienen, rein mechanische Funktionen und zeichnen sich dementsprechend durch große Festigkeit aus. Sie setzen sich beim Flachs (wie beim Hanf) aus einzelnen Bastzellen zusammen, die untereinander fester verbunden sind, als die gesamte Bastfaser mit dem umgebenden Gewebe. Ihre Lage im Phloënteil des Gefäßbündels bringt es mit sich, daß sie gegen die Rinde zu von deren Parenchymzellen und seitlich sowie nach innen von den parenchymatischen Markstrahlzellen bzw. parenchymatischen Elementen des Siebteils begrenzt sind. Die Aufgabe des Röstprozesses besteht entsprechend diesen anatomischen Verhältnissen demnach darin, die Fasern bzw. Faser-netze aus dem Verbande mit Phloëm- und Rindenparenchym herauszulösen. Daß sie damit zugleich vom Holzteil des Gefäßbündels und überhaupt vom Holzkörper befreit werden, versteht sich von selbst.

Aus den Resultaten der bisherigen mikroskopischen Untersuchungen von ungeröstetem und geröstetem Flachs und Hanf geht nun hervor,

1) daß die Bastfaserzellen nicht wie das umgebende Parenchym durch eine Mittellamelle aus pektinsaurem Kalke, sondern durch eine verholzte Mittellamelle untereinander verbunden sind, und

2) daß auf dieser Differenz des chemischen Charakters der Mittellamellen die ganze Röste beruht, da die Rösterreger wohl die Fähigkeit haben Pektinstoffe zu zersetzen und dadurch die Bastfasern aus dem umgebenden Parenchym herauszulösen im stande sind, nicht aber jene verholzten Mittellamellen zerstören können¹⁾.

So sicher es nun ist, daß hierdurch die Faserbündel sowohl bei Flachs als auch beim Hanf in der Hauptsache als Ganzes erhalten

1) Vergl. namentlich die erwähnte Arbeit von Prof. Behrens, Untersuchungen über die Gewinnung der Hanffaser etc., a. a. O. p. 165.

bleiben, falls die Röste überhaupt richtig verläuft, so bleibt doch, zumal für den Flachs, die Frage offen, ob bei demselben nicht doch die Röste eine teilweise Trennung der Faserbündel in dünnere Bastzellenverbände bewirkt, ganz abgesehen von der nachfolgenden mechanischen Behandlung.

Wiesner¹⁾ sagt zwar einerseits, daß selbst die Fasern der feinsten Flachssorten noch aus ganzen Gruppen von Bastzellen bestehen und man nur selten gänzlich isolierten Bastzellen begegnet, spricht sich aber an anderer Stelle im Gegensatz dazu auch dahin aus, daß bei der Röste auch die Interzellulärsubstanz im Bastgewebe teilweise gelöst werde. In wieweit diese letztere Behauptung zutreffen kann, läßt sich vor allem durch mikroskopische Untersuchung von nicht geröstetem und geröstetem Flachs entscheiden.

Nach alledem mußten meine mikroskopischen Studien bezwecken

1) den chemischen Charakter der Mittellamellen der Bastfasern des Hanfes und Flachses erneut festzustellen und

2) durch Untersuchung von geröstetem und nicht geröstetem Material ein Urteil zu gewinnen, inwieweit während der Röste eine Lockerung des Verbandes der Bastfaserzellen bzw. eine teilweise Lösung eintritt.

Als Reagenzien auf Holz benützte ich im Vergleich zu den bekannten Mitteln wie Phloroglucinsalzsäure und Anilinsulfat, vor allem die von Mäule²⁾ angegebene Reaktion mit Kaliumpermanganat, denn es mußte von Interesse sein zu prüfen, ob jene nur auf Hadromal reagierenden Stoffe im vorliegenden Falle wirklich auch die Gegenwart von Holz anzeigen, wie es ja wahrscheinlich ist, und ob die bisherigen Angaben über die Verholzung der Bastfasern sich auch bei der Prüfung mit dem neuen Reagenz bestätigen würden. Gerade letzterer Punkt war von Interesse; denn es kann sehr wohl daran gedacht werden, daß zwar im eigentlichen Holze Hadromal- und Holzreaktion zusammenfallen, daß aber in solchen Fällen wie bei den Bastfasern, wo die Verholzung augenscheinlich nur zum Zwecke der Versteifung des mechanischen Systems eintritt, die Hadromalbildung ausbleibt und daher die bisherigen Reagenzien auf Holz versagen.

Von Farbstoffen benützte ich das Phenosafranin, das den großen Vorzug hat, an sich schon mit Holz einerseits und Pektinstoffen andererseits differenzierte Färbungen zu geben, die sich leicht unterscheiden lassen. In dünner wässriger Lösung wird Holz violettrot, die pektinstoffhaltigen Parenchymmembranen dagegen orange gefärbt. Endlich verwandte ich zur speziellen Färbung der Pektinstoffe das von Mangin³⁾ und von Straßburger empfohlene Rutheniumrot, das aus dünner, wässriger Lösung von pektinhaltigen

1) Wiesner, Die Rohstoffe des Pflanzenreichs. Abt. II. p. 298.

2) Mäule, Das Verhalten verholzter Membranen gegen Kaliumpermanganat, eine Holzreaktion neuer Art. Habilitationsschrift. Stuttgart 1901.

3) Mangin, Journal de Botanique. T. VI. 1892. p. 206, 235, 363: *Propriétés et réactions des composés pectiques*; T. VII. 1893. p. 37, 121, 325: *Recherches sur les composés pectiques*.

Membranen mit großer Energie aufgenommen wird und diese fast braunrot färbt.

a) Ergebnisse der Untersuchung des ungerösteten Materials.

Ich beschränke mich für die Zwecke vorliegender Arbeit auf den Flachs und bemerke nur, daß ich Hanf ebenso eingehend prüfte und hier genau die gleichen Verhältnisse wie beim Flachs feststellen konnte, mit Ausnahme natürlich der etwas stärkeren Verholzung der Bastfasern.

Mit Phloroglucin und Salzsäure, sowie Anilinsulfat, das übrigens eine weit schärfere Reaktion gibt, wenn man es in alkoholischer Lösung einwirken läßt, gaben völlig übereinstimmend Holzreaktion:

1) das Holz, worin auch das zerdrückte, nach dem Mark zu liegende Vasalparenchym sich meistens färbte, und

2) die zwischen den Bastfaserzellen liegende und sie miteinander verbindende Mittellamelle.

Die Bastfasern selbst blieben meist völlig ungefärbt, und nur hin und wieder fand sich ein Bündel, das wie Holz reagierte und dessen Mittellamellen in diesem Falle gleichfalls eine weit stärkere Färbung annahmen.

Ungefärbt blieben bei Behandlung mit beiden Reagenzien das Mark, die gesamte Rinde, alles Parenchym, und der Siebteil der Gefäßbündel.

Etwas anders fiel die Reaktion mit Kaliumpermanganat aus, die bei Flachs übrigens nicht so leicht auszuführen ist wie beim Hanf, und richtig nur gelingt, wenn man die Schnitte mit 1-proz. Permanganatlösung eben zum Kochen erhitzt und sofort in Wasser überträgt. Durch Behandlung mit kalter Permanganatlösung konnte ich eine wirklich gute Färbung nicht erhalten. Die weitere Behandlung ist dann die gleiche wie von Mäule angegeben, also Aufhellen in mittelstarker Salzsäure, Waschen mit Wasser und Alkalisieren mit Ammoniakdämpfen. Besonders schön trat mit diesem Reagenz die Holznatur der Mittellamellen in den Bastfasern hervor, die sich durch ihre rote Färbung sehr scharf von den ungefärbten eigentlichen Bastfasern abhoben. Auch mit Kaliumpermanganat erwies sich, daß nur manche Bastfaserbündel bzw. auch nur Teile derselben, Verholzung erfahren haben, die dann besonders die sekundäre Membran betrifft. Uebrigens zeigte mit Kaliumpermanganat auch die innerste tertiäre Membran fast durchweg ausgesprochene Holzreaktion. Demnach ist die Frage, ob etwa die Bastfasern des Flachses eine Verholzung erfahren haben, die nicht mit den Hadromalreagenzien, wohl aber vielleicht mittelst Permanganat nachweisbar ist, im wesentlichen zu verneinen.

Die Zellwände des die Bastfasern umgebenden Parenchyms, sowie deren Mittellamellen blieben natürlich völlig ungefärbt. Dementsprechend war dort, wo die Parenchymzelle an die Bastfaser angrenzte, eine Differenzierung der verbindenden Mittellamelle in eine verholzte und eine nicht verholzte Schicht zu bemerken.

Das Holz war sehr stark gefärbt, doch blieb darin bezeichnenderweise das zurückgedrängte und zerdrückte Vasalparenchym völlig ungefärbt, ebenso das Mark und die gesamte Rinde mit Ausnahme der nach außen liegenden direkt unter der Cuticula befindlichen Zellwandseite der Epidermis, die sehr schöne Holzreaktion mit Kaliumpermanganat gab, dagegen bei Anwendung von Phloroglucin oder Anilinsulfat ungefärbt blieb.

Sehr schöne Differenzfärbungen wurden mit Phenosafranin erhalten. Gegen diesen Farbstoff reagierten mit violettroter Färbung das Holz (mit Ausnahme des Vasalparenchyms) und die Mittellamellen der Bastfaserzellen, alles andere dagegen nahm nur einen orangeroten Ton an, d. h. reagierte wie Pektinstoffe. Insbesondere zeigte eine schwache Färbung auch die mächtige sekundäre Cellulosenmembran der Bastfasern. Demnach konnte ich nicht die Angaben Hauman's¹⁾ bestätigen, daß auch die Mittellamellen der Bastfasern gegen dieses Reagenz wie Pektin reagieren. An zahlreichen Schnitten aus allen Teilen des ganzen Flachsstengels beobachtete ich ohne Ausnahme, daß die Bastfasermittellamellen genau die gleiche Färbung wie das Holz annahmen und durchaus nicht wie die Parenchymmittellamellen reagierten. Auch mit Phenosafranin zeigten manche Bastbündel ein von der großen Mehrzahl abweichendes Verhalten, insofern sie ganz oder teilweise starke Holzreaktion gaben.

Sehr instruktiv war auch das Bild, das die Färbung mit Rutheniumrot ergab. Als stark gefärbter Gürtel umlagerte dann das Parenchym die Bastfaserbündel. Auch die Oberhaut und ferner das Mark nahmen kräftig den Farbstoff auf, während dagegen das Holz nahezu farblos blieb und nur das diesem eingelagerte Vasalparenchym sich stark tingierte. Bei stärkerer Tinktion nahm allerdings auch das Holz etwas Farbe an. Die Bilder waren dann besonders lehrreich, insofern nunmehr das stark gefärbte nach dem Mark zu gedrängte Vasalparenchym und die etwas besser als das Holz reagierenden Markstrahlen außerordentlich deutlich das einzelne Gefäßbündel umgrenzten und seine Zugehörigkeit zu einem vorgelegerten Bastbündel offenbarten. Bei einer solchen Ueberfärbung hoben sich auch die Mittellamellen stärker tingiert ab und bewiesen dadurch ihren ursprünglichen Gehalt an Pektinstoffen, die auch während der Verholzung ihre chemische Natur bewahrt hatten.

Die Tatsache, daß eine Membran gegen Rutheniumrot wie Pektinstoffe reagieren kann, obgleich sie bereits verholzt ist, zeigte sich auch noch besonders auffällig an der Mittellamelle der Bastfaserzellen. Obgleich durch alle bisher aufgezählten Reaktionen sicher bewiesen ist, daß sie bei dem von mir geprüften Flachs verschiedenster Provenienz tatsächlich verholzt war, reagierte sie dennoch gegen Rutheniumrot wie Pektin und nahm damit eine sehr starke Färbung an, die sich auch bei weitgehendster Entfärbung erhielt. Dadurch ist meines Erachtens bewiesen, daß diese Mittellamellen wirklich zu einem nicht unerheblichen Teile aus Pektinstoffen bestehen, und es ergibt sich die Möglichkeit, daß bei der Röste dieser Bestandteil der

1) A. a. O.

Mittellamelle zerstört und dadurch eine gewisse Lockerung des Verbandes herbeigeführt wird, die für die Feinheit des Flachses wahrscheinlich nicht bedeutungslos sein dürfte.

b) Mikroskopische Untersuchungen des gerösteten Flachses.

Die auffallendste Veränderung gegenüber dem Bild, das der ungeröstete Flachs bot, war das Fehlen der scharfen Rotfärbung mit Rutheniumrot in dem Parenchym und dementsprechend der geringe Zusammenhalt der parenchymatischen Zellen untereinander und mit den Bastfasern. Natürlich trat bei kräftiger Tinktion eine deutliche Färbung ein, doch nicht im Entferntesten so stark wie am ungerösteten Material. Ich hatte Gelegenheit, den Flachs einer Fabrikröste unbehandelt, sowie im Anfang, in der Mitte und nach Beendigung des Röstprozesses zu untersuchen und konnte dabei beobachten, daß die Rotfärbung des Parenchyms mit Rutheniumrot immer mehr zurückgeht. Indessen zeigten auch die Bastfasern, trotzdem ihre Mittellamelle noch sehr deutlich sowohl mit den Hadromalreagenzien als auch mit Kaliumpermanganat die Holzreaktion gaben, einen weit geringeren Zusammenhalt mit den benachbarten Fasern, als im ungerösteten Zustand, so daß auch dies die schon oben gezogene Schlußfolgerung, es würden die Bastfasern auch untereinander gelockert, bestätigt. Wahrscheinlich verkleben sie beim Trocknen wieder innig. Auffallenderweise scheint übrigens der Verband der Bastfaserzellen in der Längsrichtung ein weit innigerer als nach der Seite zu sein, denn oftmals konnte ich zwar eine stellenweise Aufspaltung der Bündel in seine einzelnen Fasern, dagegen niemals einen Zerfall in die einzelnen Bastfaserzellen beobachten, obgleich ich besondere Mühe darauf verwandte.

Flachs, der mit der Reinkultur des Rösteerregers geröstet war, zeigte genau dieselben Verhältnisse.

2) Chemische Untersuchung der verwendeten Pektinstoffe.

Aus anatomischen Gründen muß bei der Röste in erster Linie eine Auflösung der Mittellamelle des Parenchyms stattfinden. Da letztere nach den Untersuchungen von Payen, Mangin u. a. zu einem bedeutenden Teile aus Pektinstoffen besteht, müssen diese interessanten Körper bei jeder Untersuchung über die Röste besonders in Betracht gezogen werden. Aus diesem Grunde hatte auch ich mich mit ihnen eingehender zu beschäftigen. Im Nachstehenden seien die Resultate dieser Untersuchungen, sowie diejenigen anderer Forscher kurz angeführt. Ihre Verwertung wird dann im weiteren Verlauf der Darstellung bequemer erfolgen können; außerdem gaben mir diese Untersuchungen eine Bestätigung der bereits von Behrens besonders hervorgehobenen Tatsache, daß chemische Methoden, die eine Auslaugung der Pektinsubstanzen bewirken, auch zur völligen Isolierung der Bastfasern, d. h. zur Röste führen.

Wie bereits an anderer Stelle ausgeführt wurde, entdeckten französische Forscher die Pektinkörper im Pflanzenorganismus und

machten sich auch um ihre weitere Untersuchung sehr verdient. Indessen wäre eine erneute Untersuchung dieser interessanten Körper äußerst erwünscht und auch sehr erfolgversprechend.

Schon Frémy¹⁾ teilte die Pektinkörper in 2 Reihen. Die erste derselben, die eigentlichen Pektine, umfaßt die Körper von neutralem, ja vielleicht schwach basischem Charakter, die sich entweder in Wasser oder besser in schwachen Säuren lösen. Als Muttersubstanz derselben betrachtet Frémy die Pektose, einen in den Zellen bezw. der Zellmembran in Gesellschaft der Cellulose vorkommenden, an sich völlig unlöslichen Körper, der sich sehr leicht unter dem Einfluß chemischer Agenzien in Pektin umwandeln soll. Durch Erhitzen mit Wasser oder schwachen Säuren entstehen aus dem Pektin zunächst Substanzen, die gegen Lösungsmittel, Bleiacetat etc. etwas anders reagieren und daher von Pektin durch die Bezeichnung Para- bezw. Metapektin unterschieden werden; bei stärkerer Einwirkung vermutlich Glieder der Säurereihe. Die charakteristischste Eigenschaft der Pektine ist ihre Umwandlung unter dem Einfluß eines in den Pflanzen sehr verbreiteten Fermentes, der Pektase, in einen säureartigen Körper, der bei Gegenwart von Kalksalzen als Gallerte sich ausscheidet. Zumal in Früchten findet sich vielfach diese Pektinverbindung.

Die zweite Reihe umfaßt Körper mit ausgesprochenem Säurecharakter. Einer derselben, die Pektinsäure, ist gleichfalls in den Pflanzen weit verbreitet und beteiligt sich, wie bereits mehrfach ausgeführt, in hervorragender Weise an der Bildung der Mittellamelle, bezw. der zwischen den Zellen vorhandenen Binde substanz. Diese Pektinsäure ist in Wasser völlig unlöslich und läßt sich aus den Lösungen ihrer Alkalisalze mit Säuren ausfällen. Auch sie erleidet beim vorsichtigen Erhitzen mit schwachen Säuren eine Umwandlung, die zunächst zur Bildung von wasserlöslicheren Verbindungen der Para- und Metapektinsäure führt. Letztere ist der stabilste Körper der ganzen Reihe, besitzt im Gegensatz zur Pektinsäure eine weit stärkere Acidität, und wird durch Chlorcalcium nicht mehr gefällt. Mit einem Ueberschuß von Alkali erwärmt gibt diese Säure eine gelbe Färbung, die meist wie bei den Kohlehydraten in Braun übergeht.

Die Konstitution der Pektinkörper ist noch eine völlig unbekannte. Sicher ist nur, daß sie zu den Kohlehydraten in genetischer Beziehung stehen, denn bei der Hydrolyse liefern sie dieselben in bedeutender Menge. Interessanter Weise entstehen sowohl Hexosen als auch Pentosen. Zumal die letzteren spielen anscheinend eine bedeutungsvolle Rolle, denn mit einer einzigen Ausnahme wurde bisher aus allen Pektinen Arabinose erhalten.

Scheibler²⁾ bekam aus der sog. Metapektinsäure, die er aus Rüben gewann, in großer Menge nur Arabinose, während andere

1) Frémy, *Mémoire sur la maturation des fruits.* (Ann. de Chim. et de Phys. 3. série. T. XXIV. 1848. p. 5.)

2) Scheibler, *Berichte der Deutschen chem. Gesellsch.* Bd. I. p. 59 u. 108. Bd. VI. p. 612.

Untersucher, vor allem Tollens und sein Schüler Tromp de Haas¹⁾ bei der Hydrolyse aus einer Reihe von Pektinen hauptsächlich Galaktan, daneben aber auch Arabinose und nach ihren Angaben sogar eine geringe Menge Cellulose erhielten. Letzterer Befund ist sehr auffallend. Meines Erachtens darf er aber nicht benützt werden, um die Auffassung, es seien die Pektinkörper lösliche und unbeständige Uebergangsformen der Cellulosegruppe²⁾, zu stützen, denn dazu sind beide Körpergruppen doch zu verschieden. Die Erklärung für obigen Befund ist vielleicht in anderer Richtung zu suchen. Ich beobachtete bei meinen Arbeiten mit Pektinkörpern stets, daß die Filter eine sehr geringe Festigkeit zeigten, wenn sie mit feuchter Pektinsäure längere Zeit in Berührung gewesen waren, und kam dadurch auf die Vermutung, daß sie durch diese Behandlung in irgend einer Weise angegriffen würden. Sollte sich das bei genaueren Untersuchungen, die ich bisher noch nicht ausführen konnte, bestätigen, so wäre damit eine einfachere Erklärung für den Befund von Tollens und Tromp de Haas gegeben.

Die Tatsache, daß man bei der Hydrolyse von Pektinen neben Hexosen stets auch Pentosen erhielt, veranlaßte dazu, die Pektinkörper überhaupt als eine Verbindung beider Kohlehydratreihen aufzufassen. Diese Anschauung findet sich z. B. in Meyers Agrikulturchemie, während sich dagegen Herzfeld³⁾ mehr dafür ausspricht, daß z. B. das Rübenpektin vermutlich ein Gemenge Arabinose und Galaktose liefernder Bestandteile nach wechselnden Verhältnissen sei.

Behrens und meine eigenen Untersuchungen zeigen, daß nicht nur die Pektine, sondern auch die weit eher als chemische Individuen aufzufassenden Pektinsäuren verschiedenen Ursprungs bei ihrer Hydrolyse in Pentosen und Hexosen zerfallen.

Behrens z. B. erhielt aus der Mittellamellensubstanz der roten Rübe im wesentlichen nur Pentosen, aus Flachspektinsäure dagegen sowohl Pentosen als auch eine Hexose, nämlich Galaktose und auffälligerweise aus Hanfpektinsäure ausschließlich Hexosen, auch hier wieder Galaktose. Dieser letztere Befund ist der einzige mir bekannt gewordene Fall, wo Pentosen im Molekül eines Pektinkörpers anscheinend ganz fehlten, und deshalb besonders erwähnenswert. Er gewinnt im Lichte der späteren bakteriologischen Untersuchungen für die Frage nach dem Erreger der Wasserröste beim Hanf eine besondere Bedeutung.

Meine eigenen Untersuchungen erstreckten sich auf die Pektinkörper des Flachses, Hanfes, der Möhren und der Serradella (*Ornithopus sativus*).

Das bequemste Ausgangsmaterial zur Gewinnung typischer Ver-

1) Tollens und Tromp de Haas, Ann. der Chemie. Bd. CCLXXXVI. p. 278.

2) C. F. Cross, Berichte der Deutsch. chem. Gesellschaft 1895. Bd. XXVIII. p. 2609.

3) Herzfeld, Zeitschrift des Vereins für Rübenzuckerindustrie des Deutschen Reiches. Bd. XI. I. p. 667.

treter aus beiden Reihen der Pektinkörper stellen die Rüben und Möhren dar. Bei der Verarbeitung der zerriebenen Möhren kombinierte ich die Methode zur Gewinnung des Pektins und der Pektinsäure, indem ich nach dem Auslaugen des gut abgepreßten Materials mit Wasser und verdünnter Natronlauge zunächst das Pektin mit 1–2proz. Salzsäure extrahierte und nach dem Auswaschen desselben mit Wasser durch dünnes Ammoniak die Pektinsäure in Lösung überführte. Eine Vermischung beider Körper ist wegen ihres direkt entgegengesetzten Verhaltens durchaus unmöglich; denn das Pektin löst sich in Säuren auf, während Pektinsäure gerade dadurch ausgefällt wird.

Die salzsaure Pektinlösung wurde mit Ammoniak neutralisiert, eingedampft und in solchem Verhältnis mit Alkohol gefällt, daß sich kein Ammonchlorid ausscheiden konnte und die Flüssigkeit 50 Proz. Alkohol enthielt. Durch Dekantieren mit gleich starkem Weingeist wurde das gallertartig ausgeschiedene Pektin so lange gereinigt, bis die Chlorreaktion fast ganz verschwunden war und darnach in Pulverform entweder durch direktes Eindampfen oder durch sukzessive Behandlung mit immer stärkerem Alkohol und endlich mit wasserfreiem Aether erhalten.

Auch auf Flachs und Hanf wandte ich die gleiche Methode an, ohne indes aus den völlig reifen Faserpflanzen Pektin außer in Spuren erhalten zu können. Hier wie bei den Möhren wurde die ammoniakalische Pektinsäurelösung mit Salzsäure gefällt, mit Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaktion ausgewaschen und entweder direkt getrocknet oder wieder vorsichtig in Ammoniak gelöst und aus sehr dünner Lösung mit $\frac{1}{2}$ -proz. Chlorcalciumlösung das Kalksalz gefällt. Auch dieses wurde durch sofortiges Abfiltrieren und nachfolgendem Dekantieren, sowie Auswaschen von allem Chlor befreit und getrocknet. Die voluminösen, schleimigen Niederschläge halten die Mutterlaugen hartnäckig fest und sind nur durch oftmaliges Dekantieren nach vorhergehendem sorgfältigem Verreiben des Niederschlages mit frischem Wasser vollständig davon zu befreien.

Bei diesen Arbeiten mit Flachs, Hanf und Möhren ließ sich nun in ausgezeichneter Weise die Beobachtung machen, daß der Zellverband des Parenchyms nur so lange erhalten blieb, als noch nicht die Pektinsäure herausgelöst war. Die Salzsäurebehandlung war diesbezüglich noch ohne jeden Einfluß, da sie ja nur der Pektinsäure den Kalk entzog, aber sowie das Ammoniak einwirkte, wurde der Zellverband gelöst und bei den Faserpflanzen die Röste erreicht.

Es kann demnach nicht daran gezweifelt werden, daß zur Erreichung der Röste die Herauslösung der Mittellamellensubstanz aus dem Parenchym der Faserpflanzen vollständig genügt; denn die eigentliche Zellmembran des Parenchyms wurde durch diese Behandlung in keiner Weise angegriffen und gab nach wie vor die charakteristische Cellulosereaktion.

(Forts. folgt.)

Nachdruck verboten.

A bacterial disease of cauliflower (*Brassica oleracea*) and allied plants.

By **F. C. Harrison,**

Director Bacteriological Department, Ontario Agricultural College and
Experiment Station Guelph, Canada.

With 6 Plates.

In the summer of 1901, a market gardener, in the vicinity of Guelph, who made a specialty of growing cauliflowers, complained of a disease which was affecting his plants and shortly afterwards, the cauliflowers in the garden department of the College were also found to be infected, while further investigation in the neighborhood showed that a disease, or rot, of cauliflowers, cabbages and white turnips was quite general and had done considerable damage to these crops.

In the case of the market referred to, more than half of his plants were affected, while in the College garden, about 5 per cent. of the plants were diseased.

Some 40 varieties of white turnips were tested on the trial grounds at Guelph and most of them were more or less affected with the rot, the percentage of decayed roots varying with the variety, from 0% to 64%. The few farmers in the Province, who experimented with the varieties of white turnips that were sent out from this Experiment Station, reported a considerable amount of soft rot.

Later in the same summer, I visited a number of farms in the vicinity of Woodstock and found a varying percentage of white turnips rotting in the fields, although the Swede turnips were not affected, and from conversation with a number of farmers who visited us during the past season, I also gathered that wherever white turnips were grown there was considerable rot during the season of 1901.

Pathogenesis.

In order to postively demonstrate that the organism isolated from the cauliflower and turnip was the cause of the rotting, the usual requirements were worked out.

1) Constant association of the *Bacillus* with the disease (named *Bacillus oleraceae* and subsequently described).

The same bacillus was isolated from diseased cauliflowers from the vicinity of Guelph and from the garden department of the College; from diseased white turnips of several varieties taken from the trial grounds of the Experiment Station and from other parts of the province and also from cabbages growing next to the diseased cauliflowers in the garden department.

This organism was also found in large numbers on the plate cultures, sometimes in pure culture, at other times in mixed cul-

ture, the most common contaminating organism being the *Bacillus fluorescens liquefaciens*. The rot bacillus was so numerous that a loopful of the rotted or pulpy tissue had to be very largely diluted in order to reduce the numbers on the culture plates to about 60—100 colonies per plate. In all these cases, no fungi were present and no mycelium was ever seen.

The Station Botanist, who also examined some of the cauliflower material, was also unable to find any mycelium of fungi.

2) Isolation of the organism and study in pure cultures.

The isolation of the causal bacillus was quite easy, as it grows well in ordinary 10 % beef peptone gelatine. The bacillus, whether isolated from diseased cauliflower, turnip or cabbage, or from different plants and varieties of the above plants, showed the same characteristics when grown on various media. Comparative studies of the various germs isolated from different sources were made, but no essential morphological or cultural differences were noticed. Bouillon ¹⁾, 10 % gelatine, agar, milk, potato raw and cooked, raw cabbage stems, raw turnip, and raw cauliflower, were used in this comparative study.

3) The pure culture of *Bacillus oleraceae* when introduced into susceptible plants produced the characteristic symptoms of the disease. A series of inoculation and cross inoculation experiments were made in order to substantiate the relation of the bacillus to the disease. Thus a series of cauliflower, turnip, and cabbage plants were inoculated in the following manner:

	Inoculated with a pure culture of the <i>Bacillus oleraceae</i> isolated from		
	Cauliflower	Turnip	Cabbage
Cauliflower	+	+	+
Turnip	+	+	+
Cabbage	+	+	+

Positive results were obtained in each case, with the characteristic symptoms of the disease, viz., rotting and blackening of the leaves and stem.

These plants were all kept under favorable conditions for the spread of the rot. These conditions are described at length later on in this paper.

4) The diseased, or rotted, tissues contained the *Bacillus oleraceae* in huge numbers; while their distribution and effect on the tissues was the same as that met with under ordinary field conditions and re-isolation proved beyond doubt that it was identical with the organism which was inoculated.

5) The chemical products of the organism also produced the characteristic symptoms of the disease. The bacillus was grown on raw turnips and cabbage until all the tissues were completely

¹⁾ These terms, where not otherwise stated, refer to media prepared in accordance with the recommendations of the American Public Health Association.

rotted, and the rotted material was then pressed, and the juice extracted and forced through a Chamberland filter. This filtrate, which was found to be sterile, produced softening and rotting when placed on cut surfaces of raw potato, turnip, cauliflower and cabbage. Control cultures of these vegetables, kept under the same conditions as the inoculated slices, remained sterile.

Pathological Histology.

A microscopical examination of the soft pulp from cauliflowers and turnips showed the presence of enormous numbers of bacteria. No mycelium or fungus spores were present. The bacteria were actively motile. In fresh preparations, free plant cells were visible and many were much disorganized.

A large variety of diseased tissues were fixed in a saturated solution of corrosive sublimate in 94% alcohol and subsequently imbedded in paraffin. Some 400 sections were cut from various diseased parts of cauliflower and turnip plants and were stained by various methods. The most satisfactory results were obtained by staining over night in carbol fuchsin, washing out the surplus stain first with water and then with 97% alcohol, clearing in oil of cloves and mounting in Canada balsam. A number of sections were also stained with anilin blue. The latter method gave fair results; but the former method was the more satisfactory.

Completely rotten cauliflower or turnip was difficult — in fact it was almost impossible — to imbed in paraffin, as the whole mass fell to pieces when thrown into alcohol. Portions of petiole, stem, or flower of cauliflower, where the disease was just starting and pieces of tissue in a more advanced stage from which most of the soft parts had been cut away, furnished the best material for study.

Cross sections showed the bacteria in the intercellular spaces, where they increased rapidly and as soon as sufficient enzyme was elaborated, it softened the middle lamella and permitted the bacteria to penetrate between the cells. These enzymes had a marked action on the cell-wall, which gradually swelled up and lost all trace of its striated character. The cell-wall at this stage also lost very largely its faculty of taking up the stain and sections stained with carbol fuchsin showed the enormously thickened cell-wall, faintly stained a pale pink, while adjacent healthy cell-walls were deep red in colour and showed very plainly the middle lamella and striations.

The drawings A, B and C show the different stages in the destruction of the cells by this bacillus. Fig. A shows the bacteria in some numbers in the intercellular spaces, some are just beginning to penetrate along the middle lamella. At this period, the cell-wall is stained deeply.

Fig. B shows a step further. The cell-wall is beginning to swell; but fragments of the interior wall may be seen, having not yet succumbed to the solvent action of the cytase. The bacteria have considerably increased and practically surround each

cell. The last stage, just before the absolute collapse of the tissues, may be seen in Fig. C, in which the lumen of the cells is very small due to the enlarging and softening of the cell-walls which now stain even more faintly than before. The bacteria have also enormously increased.

Sections of pieces of turnip, affected with the rot, showed slightly different features; although the action of the bacillus was the same.

Turnip cells have much thinner walls than the cauliflower petiole, or stem; consequently, when attacked by the rot, they collapse more rapidly and the marked swelling which we see in the cauliflower is either absent or less well developed.

Figs. 9 and 11 show the bacteria in the intercellular spaces, the slight swelling of the cell-walls and the beginning of the disorganization of the cells.

Inoculation experiments.

It was found impossible to perform trustworthy inoculation experiments with plants grown in the field, as in this locality the white turnips and cauliflowers were more or less affected with the rot, hence it was necessary to grow fresh plants, from clean seed, in soil which had never been used for growing these plants. On account of the lateness of the season, the plants were grown under glass and all the following experiments, unless otherwise stated, were conducted on pot-grown plants in a greenhouse with an average day temperature of 20—25° C.

Series I. Three plants each, of cabbage, cauliflower, rape, white turnip, Swede turnip and kale were inoculated with needle punctures through the parenchyma of the leaves. The platinum needle was dipped into a 24 hour bouillon culture of the organism and from three to five punctures were made on one or two leaves of each plant.

Results.

Cabbage. In two days, the inoculated leaves were flaccid and whitish brown in the vicinity of the punctures. This area increased slowly for five days and then dried out.

Cauliflower. In two days, there was a flaccid, papery area surrounding the punctures; in five days, all leaves were rotted and had dropped down parallel with the stem of the plant.

There was no subsequent infection of the stems, the leaves gradually dried off at the base of their petioles.

Rape. No results followed inoculation.

White turnip. Slight infection was produced around the punctures; but lack of moisture seemed to hinder further growth.

Swede turnip. No results followed the inoculation.

Kale. No results followed the inoculation.

Control plants of each species, pricked with a sterilized needle, remained perfectly healthy.

This series, therefore, showed that the inoculation of the germ,

made with needle pricks in the parenchyma of the leaves, produced more or less disease in cauliflower, cabbage and white turnips. The absence of sufficient moisture in the greenhouse, however, prevented the disease from becoming thoroughly established.

Series II. This series was a duplicate of series I, only an agar culture of the organism was used instead of a bouillon culture.

The results were similar to those in series I, with the exception of the Swedes which became slightly infected. In one plant, a whole leaf rotted and fell off the plant; but the petiole subsequently dried off.

Series III. In this series, three plants each of cabbage, cauliflower, rape, white turnip, Swede turnip and kale, were inoculated with needle punctures through the veins of the leaves. The needle was dipped in a 24 hour old bouillon culture and from 3 to 7 punctures were made on one or two leaves of each plant.

Control plants were punctured in the same manner; but with a sterilized needle.

Results.

Cabbage. In two plants there was no apparent change; in the other plant a small cavity 15 mm. long and 5 mm. wide had been formed on the mid-rib by the rotting of the cells; but this subsequently dried out and the leaf remained healthy.

Cauliflower. No results followed the punctures of the veins and mid-rib.

Rape. In 10 days, the leaves of all three plants were slightly affected, the vein was split, and a watery exudation was present on the surface. The inoculated leaves began to droop; but the disease progressed no further and the wound became callused and partly healed.

White turnip. The inoculated leaves behaved in exactly the same manner as the inoculated rape leaves.

Swede turnip. No results followed the punctures of veins and mid-rib.

Kale. No results followed the punctures of veins and mid-rib.

This series, as a whole, gave less harmful results than the inoculation of the parenchyma. In cabbage, rape and white turnip some slight disease symptoms were produced; but there was no general infection of the plant. Lack of moisture seemed again to prevent the rapid development of the disease and perhaps the different composition of the vascular cells hindered the formation of cell destroying enzymes.

Series IV. In this series, three plants of each the five species already mentioned were used. A small portion of the epidermis on the upper part of the base of a leaf-stalk was removed, and two loopfuls of a bouillon culture were rubbed on the exposed portion.

Results.

Cabbage. The leaf-stalk rotted through in three days, and

the leaf fell off from its own weight. The rotting did not affect the stem, as the diseased tissue dried out.

Cauliflower. There was slight rotting, or softening, in two days, and in five days the leaf rotted off, and the portion next to the stem dried up.

Rape. Slight rotting occurred for three days, when the wound dried up.

White turnip. In two days the softening of the tissues at point of inoculation had extended the petiole. In five days, the leaf fell off, the rotting extending all through the stalk. The infected base then dried and healed.

Swede turnip. Behaved the same as the white variety.

Kale. In three days the leaves were so much rotted through that its own weight caused it to break off. The wound then dried up.

Control plants with the epidermis removed, but with no inoculation, remained healthy.

In the above account of this series, the results are given for only one plant of each species, the two remaining plants of each lot behaved in a similar manner. These plants showed considerably more disease than those inoculated by vein or parenchyma punctures. This was probably owing to more moisture being present. At the juncture of the stalk with the stem, small drops of water would collect from the leaf surface, thus providing more moisture for the bacteria. As soon as the leaf had rotted off, or fallen by its own weight, no more water collected in the angle of leaf and stem, and the tissues rapidly dried up.

Series V. In this series one plant of each of the species already mentioned was used.

The lowest leaf of each plant was cut off, about an inch from its juncture with the stem. The cut surface was then rubbed over with a platinum loop, charged from a bouillon culture of the organism. Check plants received the same treatment, without inoculation. The results were very similar to series IV, and need not be repeated in detail. Rotting usually extended downwards toward the stem for about half an inch, or even as far as the juncture with the stem, and then dried out. The check plants showed no signs of rotting.

Series VI. Three cauliflower plants were inoculated at the base of the petiole with a bouillon culture by means of two or three needle pricks. In two days, there was rotting, the affected area being about 3×7 mm. One of these plants was then placed under a belljar, and at the end of six days the inoculated petiole and leaf were completely rotted, the leaf fell off in a mushy mass, and the rot spread to the stem infecting the whole plant.

The flower head, which was well developed and quite white, gradually changed to a brown color, and then rotted. The plant was practically destroyed 14 days from infection.

The diseased area in the other two plants (kept in the same

state except that no bell-jar covered them), gradually dried out, leaving a small hole caused by the rotting of the tissues.

Subsequently this experiment was repeated several times, with the same results — the plant under the bell-jar rotting leaf by leaf, with final rotting of the flower.

Fig. 2 shows the beginning of the rot, a leaf (the one inoculated) having rotted through at the base of the petiole and fallen off. The stem of the plant, just below the crown is darkened, due to the softening and discoloration of the tissues, and the lower leaves are beginning to wilt owing to the cutting off of their supply of nourishment. The leaves of the healthy plant, as shown in Fig. 1, are erect and rigid, and comparison with the inoculated plant in Fig. 2 shows the different position of the infected leaves, which gradually declined until they were at a right angle with the stem, and finally fell or broke off at the base of the petiole.

Fig. 3 shows a plant at a later stage. Most of the leaves are affected and the flower has become brown, and a part of it has completely rotted to a pulpy mass.

The experiments made in this series obviously show the relation of a humid atmosphere to the disease. When the air is full of moisture, it affords the best conditions for the rapid growth of the micro-organism on the exterior of the plant; and it favors the production of a large amount of cytase-like enzyme which quickly causes the softening and destruction of the tissues.

Series VII. Under field conditions, one frequently noticed that the leaves seemed perfectly healthy; but the flower was affected. This fact seemed to point to the probability that the flower-head might be very susceptible to the disease; or that the organism might be able to penetrate the unbroken epidermis. In order to test these points, three well developed cauliflower plants were infected in the following manner:

No. 1 Water drops on the leaves were inoculated with 24 hour old bouillon culture.

No. 2. A small piece of softened tissue, taken from the interior of an affected petiole with a sterilized wire, was laid on the surface of the healthy flower.

No. 3. A loopful of bacteria, taken from the surface of an agar-slope culture 24 hours old, was gently rubbed over a portion of the dry surface of the flower.

Two check plants were well watered with a syringe and kept under the same conditions as the above, viz., in the warm greenhouse, which had a very humid atmosphere, and an average day temperature of 28° to 32° C, and a night temperature some 10 degrees lower.

Results:

In two days, No. 1 showed slight discoloration of the treated area. In four days, softening commenced; and in 8 days the whole flower was a pulpy mass.

No. 2 behaved in a similar manner, but the discoloration and softening started earlier and the flower was reduced to a pulpy,

blackish mass in 6 days from the time of inoculation. Fig. 4 is a photograph of this plant on the fifth day, the whole flower mass having dropped and turned black.

No. 3 showed no signs of disease even after fourteen days.

N.B. No water was syringed on the flower of this plant.

The check plants were syringed every day and remained absolutely healthy.

Summary: These experiments seem to show that, provided sufficient moisture is present on the exterior of the flower of the cauliflower, infection by *Bacillus oleraceae* can and does take place. If small portions of the rotted tissues were placed upon the flower of healthy plants, infection took place, in spite of the mechanical resistance of the cuticle and epidermal cells. Many plants, under field conditions, were found with the flower alone infected.

Series VIII. In this series, three healthy white turnips (Greystone variety) were inoculated at the crown with two needle punctures. A check plant was treated in a similar manner, but with a sterilized needle.

Nothing was noticeable for two days; but on the third day, a small drop of water was exuding from each puncture of the inoculated plant and on the fifth day, rotting to a depth of 5 mm. had taken place. In 14 days, the plants were dead. Fig. 5 is a photo of one of these plants 9 days after inoculation.

The check plant remained perfectly sound and healthy.

Subsequently the experiment was repeated, with the same results. Fig. 6 shows the extent of the rotting process, 6 days after inoculation with one needle puncture while Fig. 7 shows the most complete rotting 10 days after inoculation.

The Greystone turnip in all the inoculations was very susceptible to this disease.

Series IX. Three healthy Swede turnips were inoculated at the crown with two needle punctures. A check plant was treated in a similar manner; but the punctures were made with a sterilized needle.

Two days after inoculation, there was a slight softening of about 2 mm in diameter around the puncture. In five days the area was only slightly larger and there was no further increase of the disease; although the plants were kept under observation for three weeks.

The check plants remained sound.

Subsequently, this experiment was carried out in the tropical house, in a warmer and moister atmosphere. The results of the inoculation were, however, the same as before — a slight local rotting, followed by a gradual drying up of the infected area.

It seems that although the Swede turnip is not wholly immune; yet it has considerable natural immunity from this disease. This is proved partly from the experimental data above presented and partly from the fact that we found very little disease among Swede turnips growing in the fields; although, on our own grounds,

some lots of Swede turnips were growing alongside white turnips which were very badly infected with the disease.

Series X. In this series, two white turnip plants and two cauliflower plants were watered with about half a litre of water in which a bouillon culture of the *Bacillus oleraceae* had been poured. This watering was again repeated two days later and all the plants, including two check plants, watered without the addition of culture were kept under observation for about five weeks. No disease developed in any of the plants, which seemed to indicate that the *Bacillus oleraceae* does not gain entrance to the plants through the root hairs.

One of the turnip plants of this series was subsequently inoculated at the crown and rotting followed in the course of a few days — thus showing that the turnip plant was susceptible to the disease.

Series XI. The virulence of old cultures.

In order to test the pathogenic power of old cultures, both a cauliflower and a white turnip were inoculated with an agar culture of the rot bacillus, 2 1—2 months old, being the seventh transfer after isolation¹). The cauliflower was inoculated, by means of needle pricks in the leaf, and kept in a warm, moist place. In three days, the first signs of rotting were noticed and the disease subsequently ran its usual course, ending in the complete destruction of the plant.

The turnip was inoculated with a puncture at the crown, which gave rise to the rotting and final destruction of the plant.

Summary: These experiments show that the bacillus is able to retain its virulence, for a considerable length of time in artificial agar cultures.

Inoculation of freshly gathered vegetables.

In all the following experiments, the vegetables were obtained fresh from the garden. These vegetables were thoroughly washed in running tap water and then, by means of a sterilized cool knife, slices were cut and placed in Petri dishes. These slices were immediately inoculated by rubbing a platinum loop (which had been charged with a bouillon culture) over their surface. In all cases, uninoculated slices of the different vegetables were also kept in order to check any contamination from germs growing on the surface, or from those which might develop from insufficient care in the preparation of the slices. In no cases did such uninoculated slices decay or rot.

All the cultures were kept at room temperature, which varied from 20—28°.

Cauliflower. The whole plant, after rinsing, was cut down the centre and placed in a large dish, and then inoculated. In

1) I have since tried the virulence of cultures which have been on agar for more than 18 months. The cultures produced the characteristic rot in inoculated plants.

two days, the stem and flower had discolored to a dirty brown, and softening extended downwards about 20 mm. There was a very disagreeable smell. In 7 days, the whole of the plant was completely rotted, could be cut down and across with a platinum needle and the dirty brown color was darker. Gas bubbles were present in all the decayed parts (see. fig. 8).

Cabbage. Cabbage plants, treated like the cauliflower, underwent the same change and in 7 days there was a complete softening of the whole plant, with the production of a very bad odour.

Turnip (white). In two days a whitish wet growth spread over the surface of the slice. There was a pale brown discoloration of the infected part. The rot extended downwards to a depth of 10 m.m. In 5 days, complete softening had occurred. The smell was slightly disagreeable.

Turnip (Swede). Decay in the yellow turnip was usually slower than in the white, but depended largely on the amount of moisture present. Where the turnip was very moist, decay advanced rapidly; but on drier surfaces decay was slower, and at times no growth took place.

There was considerable exudation of water on the inoculated part and abundant brown-black growth which softened to a depth of 4 mm. After two days' growth, gas bubbles were present. Frequently, a whitish moist growth was noticed instead of the brownish-black — due either to difference of water content, or difference of variety. Observations were made on thirty turnips of several different varieties.

Rape. In two days, there was a water-soaked appearance, slight smell and slight softening. After 7 days, the slice, 12 mm. thick, was completely softened, the smell was bad and on the surface a white, moist growth was present.

Radish. In 24 hours, the surface was covered with a copious, watery exudate. The affected area was darkened and softened to a depth of 6 to 7 mm. In two days, the radish had completely softened, was blackish in appearance with a thin, dirty white skin on the surface. The pigment of the skin was dissolved and colored the condensation water. In 6 days, the radish was completely dissolved, forming a thick, dark, liquid.

Parsnip. In two days, softening to a depth of 10 mm. had occurred. There was considerable water lying in the form of drops on the inoculated portion. The growth on the surface was moist and yellowish white in color and around the growth the parsnip was brownish black. In 7 days, the slice, 12 mm. thick, was completely softened. There was no smell.

(Conclusion is followed.)

Nachdruck verboten.

Die Bakterienflora gesunder Samen und daraus gezogener Keimpflänzchen.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des eidg. Polytechnikums in Zürich.]

Vom Assistenten Dr. **Max D üggeli**.

(Fortsetzung.)

Wie mehrere blinde Versuche gezeigt hatten, war sowohl der Sand wie das zum Anfeuchten benutzte Wasser ursprünglich vollkommen keimfrei. Allein die mit den Samen und Früchten eingesäten Bakterien-species vermehrten sich im Laufe des Keimungsvorganges auch im feucht erhaltenen Sande so stark, daß derselbe Keimzahlen aufweist, wie sie die besten Kulturböden nicht erreichen. Wahrscheinlich findet von den keimenden Samen und Früchten aus durch kapillare Wasserströmung in Verbindung mit aktiver Bewegung der Bakterienstäbchen ein Ausbreiten der Mikroorganismen in den sterilisierten, angefeuchteten Sand statt. Wie zu erwarten, waren die auf den Saatmaterialien weit dominierenden Bakterien-species: *Bacterium herbicola aureum* und *Bact. fluorescens* auch im Keimboden die vorherrschenden. Mit der Entfernung von der Wurzel des Pflänzchens ist nicht stets ein Abnehmen der Keimzahl im Sand zu konstatieren. Wie vorauszu-sehen war, ist nicht die Zahl der Bakterien auf dem ausgestreuten Saatmaterial maßgebend für die Keimzahl im umgebenden Sande, im Gegenteil wurde die größte Zahl von Keimen per Gramm Sand (37 600 000) da beobachtet, wo die eingesäete Samenprobe am wenigsten Keime enthielt. Die Ausbreitung der von den Samen und Früchten stammenden Mikroorganismen ist offenbar von einer Reihe von Faktoren abhängig (Feuchtigkeit, Nährstoffe), über welche wir nicht nähere Angaben zu machen in der Lage sind.

Im allgemeinen ist diejenige der beiden Bakterien-species *Bacterium herbicola aureum* und *Bact. fluorescens* in dem als Keimbeet dienenden Sande die vorherrschende, welche auf den Samen die dominierende war. Doch sind bei den ausgeführten Versuchen fünf Ausnahmen von der Regel eingetreten, wobei im Sande die Bakterienart quantitativ die erste Stelle einnahm, die auf dem Saatmaterial zurücktrat, wahrscheinlich begünstigt durch spezifische Feuchtigkeits- und Ernährungsverhältnisse. Immerhin muß aber auch bemerkt werden, daß die zur Verwendung gelangte Saat zwar der gleichen Probe entstammte wie die drei Samen, an welchen die Keimzahl festgestellt wurde, daß aber, wie an anderer Stelle zahlenmäßig dargetan wurde, innerhalb einer Saatprobe die einzelnen Samen und Früchte in Zahl und Art der auf ihnen vorkommenden Mikroben stark variieren können. Bemerkenswert ist die gewaltige Variabilität der Zahl der Keime per Gramm Sand (Minimum 360 000, Maximum 37 600 000), die von den Samen resp. Früchten und Keimpflänzchen aus in den sehr wenig Nährstoffe bietenden ge-

schleimten Seesand, der nur mit sterilisiertem Leitungswasser begossen wurde, ausschwärmen.

Es schien uns ferner von Interesse, zu verfolgen, wie die Bakterienflora der gesäten Samen und Früchte sich gegenüber den Mikroorganismen von humusreicher, mit Kompost gedüngter Gartenerde verhalte. Der mittlere Keimgehalt der zur Verwendung gelangten Erde (arithmetisches Mittel dreier gleichzeitig erfolgter Bestimmungen, die nur wenig differierten) betrug per Gramm 1800000 Keime, wovon ca. 1 Proz. *Bacillus mycoides*, 40 Proz. *Bac. Megatherium*, 1 Proz. *Bacterium Coli*, 32 Proz. *Bact. putidum* und 26 Proz. *Bact. fluorescens* angehörten. Das *Bacterium herbicola aureum* fehlte im Keimbeet ursprünglich anscheinend ganz. Die durch Keimzahlbestimmungen erhaltenen diesbezüglichen Resultate sind in der untenstehenden Tabelle V B zusammengestellt.

(Siehe Tabelle V B p. 58, 59).

Auch hier ergibt sich, wie bei den Keimversuchen mit Samen auf sterilisiertem Sande, die bemerkenswerte Tatsache, daß die Bakterienflora des Keimbeetes scheinbar unabhängig ist von den verschiedenen äußeren Bedingungen (Licht, Temperatur und der Feuchtigkeit, die nicht innerhalb zu großer Grenzen schwankt). Ebenso ist zu konstatieren, daß mit der Entfernung von dem als Infektionsherd dienenden Samen die Zahl der Mikroorganismen nicht selten zu- statt abnimmt. Wenn wir die erhaltenen Keimzahlen der Erde nach dem Auflaufen der eingesetzten Samen und Früchte mit denen vergleichen, welche vor dem Keimen der Saat erhalten worden waren, so ergibt sich ein überraschender Befund. Durch das Zusetzen von neuen Mikroorganismen mit den Samen zum Boden wurde nur in 10 von 24 beobachteten Fällen eine Zunahme der Keimzahl desselben bewirkt, während in 2 der Bakterienbestand quantitativ, nicht aber qualitativ gleich blieb, und in der Hälfte der zur Untersuchung gelangten Proben war im Gegenteil die Zahl der entwicklungsfähigen Mikroben in der Erde nach dem Auflaufen der Samen kleiner als vor demselben, ja sank in einem Falle sogar auf den zehnten Teil der ursprünglichen Keimzahl¹⁾. Diese auf den ersten Blick paradox erscheinende Beobachtung läßt sich dadurch erklären, daß wir nicht nur die Quantität, sondern auch die Qualität der in den verschiedenen Erdproben vorkommenden Mikroorganismen berücksichtigen müssen. Mit einer einzigen Ausnahme, wo die in der Erde ursprünglich vorhandenen Bakterien species nicht durch andere ganz oder teilweise ersetzt wurden, ließ sich feststellen, daß das *Bacterium herbicola aureum*, welches in der Erde anfänglich nicht enthalten war, von den Samen resp. Keimlingen aus in den Boden vorzudringen vermochte und hier im Wettbewerb mit den übrigen Bakterien im Maximum 83 Proz. der Gesamtbodenflora ausmachte. Auffallend ist das Verhalten von

1) Im Maximum betrug die Zunahme des Bodens an Keimen durch die Bakterienflora der Samen und Früchte das 2 $\frac{1}{2}$ -fache der anfänglichen Keimzahl.

Tabelle

Einfluß der durch keimende Samen in die Gartenerde
Boden

Pflanzenspecies		Same oder Frucht				Verwendete Keimerde			
		Zahl und Art der entwickelungs-fähigen Keime				Zahl und Art der entwickelungs-fähigen Keime in 1 kg Erde			
		Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Keime	Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Keime
Triticum Spelta L. F.	Unter ver- schiedenen äußeren Be- dingungen (Licht etc.) gekeimt	8 330	2	98		1 800 000	26		74
Triticum Spelta L. S.	Unter ver- schiedenen äußeren Be- dingungen (Licht etc.) gekeimt	43 300	14	86		1 800 000	26		74
Triticum vulgare Vill. S.	Unter ver- schiedenen äußeren Be- dingungen (Licht etc.) gekeimt	3 100		100		1 800 000	26		74

Bact. fluorescens, das zum Teil bei der auftretenden Konkurrenz des *Bact. herbicola aureum* ganz oder teilweise verdrängt wurde und nur in 4 Bodenproben durch den Einfluß der Bakterienflora der Samen, in der es eine wichtige Rolle spielt, eine namhafte Vermehrung erfuhr. Die gewaltige Expansionskraft des auf den Samen und Keimlingen dominierenden *Bact. herbicola aureum* erlitt in *Bac. Megatherium* offenbar den Hauptwiderstand, denn diese letztere Bakterienart war in 23 von den untersuchten 24 Erdproben mindestens in der gleichen, meist aber in größerer Individuenzahl im Boden nach dem Auflaufen der Samen als vor demselben. Hier und da hatten sich von den Samen aus in die Keimerde einige Schimmel eingeschlichen, doch vermochten dieselben keinen namhaften Bestandteil der mikroskopischen Bodenflora auszumachen. Vereinzelt kamen nach dem Keimen der Samen und Früchte auch *Bact. putidum*, *Bact. Coli* und *Bac. mycoides* im Boden vor, andere Bakterienarten dagegen nicht.

Zum Schlusse wollen wir noch die Resultate, welche wir durch Verarbeiten der von Keimpflanzen aktiv ausgeschiedenen Wassertropfen auf Gelatineplatten erhielten, kurz mitteilen.

(Siehe Tabelle p. 60.)

V.B.
 gelangenden Mikroorganismen auf die ursprünglichen
 Bakterien.

Erde bei oder zwischen den Pflanzen- wurzeln				Erde ca. 1 cm von den Pflanzenwurzeln entfernt u. ca. 2 mm unter der Oberfläche			
Zahl und Art der entwicklungsfähigen Keime in 1 g Erde				Zahl und Art der entwicklungsfähigen Keime in 1 g Erde			
Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrig Keime	Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrig Keime
1 200 000		65	35	1 200 000		32	68
1 400 000		73	27	900 000		34	66
180 000		1	99	1 200 000		1	99
800 000		38	62	1 000 000	5	83	12
1 200 000	8	56	36	2 400 000	33	12	55
3 000 000	3	44	53	900 000	16	56	28
5 400 000	20	39	41	6 200 000	10	50	40
3 600 000		12	88	2 250 000			100
1 200 000	33	15	52	6 000 000	30	61	9
1 500 000	75	25		1 800 000	12	8	80
2 400 000	12	57	31	1 800 000	10	70	20
3 600 000	3	81	16	3 600 000	8	75	17

Die vorwiegend ganz enorm großen Zahlen von entwicklungsfähigen Keimen in den von jungen Spelpflanzen aktiv ausgeschiedenen Wassertröpfchen überraschen uns nicht, denn in ihnen sind die Mikroorganismen zufolge der reichlich zur Verfügung stehenden Feuchtigkeit in steter Vermehrung begriffen; nur ist bemerkenswert, mit welcher geringen Nährstoffmengen die Bakterien auszukommen vermögen. Das aktiv ausgeschiedene Wasser enthält nur 0,05—0,1 Proz. Trockensubstanz¹⁾, wovon ca. die Hälfte Aschenbestandteile sind, und doch findet darin eine so ungeheuerliche Vermehrung der Keime statt²⁾. In dieser Bakterienflora bilden die auf den Keimlingen dominierenden Arten *Bacterium herbicola aureum* und *Bact. fluorescens* die Hauptkonstituenten und nur in einem Falle vermochte *Bact. putidum* einen bescheidenen Anteil der Mikrobenflora auszumachen.

1) *Haberlandt*, Physiologische Pflanzenanatomie. II. Aufl. p. 424.

2) Bezüglich der Ansprüche der im aktiv von den Keimpflanzen ausgeschiedenen Wasser vorherrschenden Bakterienarten an die Stickstoff- und Kohlenstoffverbindungen der zur Verfügung stehenden Nährstoffe sei hier auf das bei Besprechung der Tabelle III Gesagte verwiesen.

Tabelle VI.
Bakterienflora in den durch die Keimpflanzen aktiv ausgeschiedenen Wassertröpfchen.

Pflanzenspecies	Zahl und Art der entwickelungs- fähigen Keime auf dem Stengel des Keimlings				Zahl und Art der entwickelungs- fähigen Keime auf dem Blättchen des Keimlings				Zahl und Art der entwickelungs- fähigen Keime pro Gramm aktiv ausgeschiedenen Wassers am Keim- ling			
	Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Keime	Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Keime	Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Keime
II. Triticum Spelta L. S.	450 000	20	80		25 000	80	20		600 000 000	100		
	600	50	50		steril				800 000		100	
	1 500	100			13 400	55	45		1 400	100		
	75 000	80	20		3 100	100			400 000 000	100		
	420 000	5	95		1 400	36	64		320 000 000	1		99
	30 000	100			700	100			320 000 000	100		
II. Triticum Spelta L. F.	150 000	96	4		126 000	100			360 000 000	77		23
	100 000		98	2	75 000		100		2 400 000 000	80		20
	900 000	33	67		180 000	33	67		1 200 000 000	33		67
	25 000	92	8		300		100	2	7 000 000 000	100		
	36 000	16	67	17	80 000	18	80		2 000 000	66		34
	216 000	17	83		255 000	22	78		6 000 000 000	13		87
	120 000		100		1 500	7	93		1 134 000	25		75

Beschreibung der auf Saatmaterialien und den aus ihnen erhaltenen Keimpflanzen öfter vorkommenden Bakterienarten, die mit den schon beschriebenen Species nicht identifiziert werden können.

Es war zu erwarten, daß nicht alle ab Samen und Früchten sowie aus ihnen erhaltenen Keimlingen isolierten Bakterienarten mit schon beschriebenen Species zu identifizieren seien, um so mehr, als die Charakterisierung der letzteren leider nur zu oft eine sehr mangelhafte ist. Es hätte aber zu weit geführt und gegenüber der aufzuwendenden Arbeit zu wenig Wert, wenn alle in den vorliegenden Untersuchungen angetroffenen Bakterien-species einer eingehenden Beschreibung gewürdigt worden wären, weshalb wir konsequent alle die Arten unberücksichtigt ließen, die nicht mindestens quantitativ 1 Proz. der gesamten Mikroflora des untersuchten pflanzlichen Materiales ausmachten. Unter den so verbleibenden Bakterienarten wurde insofern noch eine Auslese getroffen, als die bei den vorliegenden Untersuchungen nicht mindestens 3mal in bedeutender Menge konstatierten Mikroben überhaupt unberücksichtigt blieben. Auf diese Weise hofften wir die durch zufällige Verunreinigungen auf Pflanzen und ihre Samen gelangenden Arten möglichst auszuschalten und nur diejenigen zu berücksichtigen, welche mehr oder weniger konstant eine nennenswerte Rolle zu spielen vermögen.

Von schon bekannten Bakterien war auf pflanzlichem Material am häufigsten: *Bacterium fluorescens* (Flügge) L. et N.; der Zahl nach folgte *Bact. putidum* (Flügge) L. et N. und öfter trafen wir *Bacillus Megatherium* De Bary, *Bac. vulgatus* (Flügge) Migula, *Bac. mesentericus* (Flügge) L. et N., *Bacterium Coli* (Escherich) L. et N., sowie einige nicht näher verfolgte *Streptothrix*- und Schimmelpilzspecies.

Mit den in den bekannten systematischen Werken von Lehmann und Neumann, Migula und Matzschita genauer beschriebenen Bakterienarten konnten wir folgende Species nicht identifizieren, die bei der Zusammensetzung der Bakterienflora, wie sie auf Saatmaterial und daraus gezogenen Keimlingen getroffen wurde, von größerer Bedeutung sind¹⁾.

I.

Neben *Bacterium fluorescens* bildet das schon öfters erwähnte *Bacterium herbicola aureum* den Hauptbestandteil der Flora von Mikroorganismen auf Samen, Früchten, Keimpflanzen, ja, soweit die Untersuchungen reichen, auf grüner Pflanzensubstanz überhaupt. Diese Stäbchenbakterie gehört, streng genommen, nicht zu den noch unbeschriebenen Mikroben, da sie zweifellos identisch ist mit dem von W. Winkler ab Pflaumenblättern isolierten

1) Leider gelang es uns nicht, trotz mehreren Versuchen die Geißelfärbung nach van Ermenghem mit Erfolg bei diesen Arten anzuwenden, was vielleicht durch die reichliche Schleimbildung erklärt werden kann.

Bacillus mesentericus aureus Winkler¹⁾. Da indessen von diesem Autor unseres Wissens eine diesbezügliche ausführliche Diagnose bis jetzt nicht gegeben worden ist, so hielten wir es in Anbetracht der wichtigen Rolle, welche die genannte Bakterienart in der pflanzlichen Mikroflora spielt, für zweckmäßig, derselben an dieser Stelle eine eingehende Beschreibung zu widmen. Den von Winkler aufgestellten Namen glauben wir aus dem Grunde fallen lassen zu müssen, weil er in hohem Grade irreleitend ist, denn der fragliche Organismus hat mit dem Kartoffelbacillus resp. mit dem *Bac. mesentericus* nichts gemein. Wir erlauben uns daher den Vorschlag zu machen an Stelle der Winklerschen Bezeichnung *Bacillus mesentericus aureus* den Namen *Bacterium herbicola aureum* zu gebrauchen. Der neue Name gibt Anhaltspunkte über das hauptsächlichliche Vorkommen der Art, ohne ausdrücken zu wollen, daß sie nur auf Pflanzensubstanz zu treffen sei. Die nachfolgenden Beobachtungen über die Morphologie und Physiologie des in Frage stehenden *Bact. herbicola aureum* machten wir an 6 Stämmen dieser Species, wovon 3 ab Saatmaterial stammen, 2 von Keimlingen isoliert und eine den jungen Blättern von *Anthriscus silvestris* Hoffm. (im Freien gewachsen) entnommen wurde.

Mikroskopisches Aussehen: 1—3, im Mittel 1,5—2 μ lange und 0,6—0,7 μ breite, an den Enden abgerundete Stäbchen, die im Inneren des Plasmaleibes keine Strukturdifferenzierungen erkennen lassen. Die Stäbchen sind einzeln oder zu zweien. In älteren Kulturen sind auf den festen Nährböden stets, in den flüssigen vorwiegend Wuchsverbände zu konstatieren. Durch Bakterien Schleim zusammengehalten bilden die Stäbchen anfangs Reihen von Einzelindividuen, die allmählich in rundliche oder langgestreckte regellose Haufen von Bakterien übergehen, welche in Wasser im hängenden Tropfen betrachtet sich bald auflösen. In vorgerückteren Stadien bilden sich aus diesen lose verbundenen Stäbchen allmählich scharf abgegrenzte, nicht so leicht auflösende Zoogloen, die für die vorliegende Art *Bact. herbicola aureum* und das gleich unter II. zu besprechende *Bact. herbicola rubrum* charakteristische Bildungen sind. Zoogloen aus älteren Kulturen sind kreisrund oder meist gedrängt wurstförmig und können je nach ihrem Alter und der Intensität der Bildung von Bakterien Schleim verschieden lange Zeit im Wasser beobachtet werden, ohne daß sie sich auflösen. So wurden Zoogloen aus 12 Tage alter Oberflächenkolonie einer Gelatineplatte trotz halbstündiger Einwirkungszeit von Wasser nicht aufgelöst. Meist braucht man diese Bakterienanhäufungen im hängenden Tropfen nicht allzu lange zu beobachten, um ihre Auflösung konstatieren zu können. Je nach der Art und Weise, wie dieses Auflösen der Zoogloen in die einzelnen Stäbchen vor sich geht, glauben wir zwei Fälle auseinanderhalten zu können.

1) W. Winkler, Untersuchungen über das Wesen der Bakterien und deren Einordnung im Pilzsystem. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. V. 1899. No. 16/17 u. 18/19.)

Ist der Wuchsverband, die Zooglöe, noch relativ jung, so daß noch keine allzu große Wasserabgabe stattfand, so findet im hängenden Tropfen ein allmählich von der Peripherie zum Zentrum vorwärtsschreitendes Abschmelzen statt, indem die Stäbchen, welche durch das Auflösen des Bakterienschleimes frei werden, sich lebhaft schwänzelnd entfernen. Die innersten Zonen der Zooglöen gehen am Schlusse des Vorganges beinahe explosionsartig auseinander. Ist der Wuchsverband dagegen schon alt, nach außen scharf abgegrenzt, so daß es scheint, die Gesamtheit der Stäbchen sei von einer Membran umgeben, so ist der Vorgang des AuflöSENS der Zooglöe ein wesentlich anderer. Kürzere oder längere Zeit liegen die „Würstchen“ scheinbar nicht beeinflußt im Wasser, hier und da ist eine Volumvergrößerung der Zooglöe, hervorgerufen durch Wasseraufnahme und deshalb erfolgte Verquellung des Bakterienschleimes, zu konstatieren, meist aber bleibt die Zooglöe scheinbar unverändert liegen. Plötzlich regt sich im Innern ein Stäbchen, ein zweites, ein drittes folgt und bald ist im Innern ein heller Aufruhr ausgebrochen. Die Bakterien bewegen sich mit einer solchen Geschwindigkeit durcheinander, daß das Auge nicht zu folgen vermag. Der Inhalt der Zooglöe scheint förmlich zu kochen. Auf einmal entsteht irgendwo, bald an einem Ende, bald auf der Seite ein Riß und die sich lebhaft bewegenden Stäbchen strömen mit größter Geschwindigkeit durch die entstandene Bresche aus. Allmählich wird das Ausströmen langsamer und jedes Bakterium kann einzeln beim Ablösungsprozeß verfolgt werden. Zuletzt und oft erst recht spät werden auch die peripherischen Teile des Wuchsverbandes aufgelöst. Während also bei jungen Zooglöen ein Abschmelzen im Wasser stattfindet und nur die Kernpartieen mehr oder weniger explosionsähnlich zerstört werden, können wir letzteren Vorgang bei der älteren, gefestigten Zooglöe von Anfang an verfolgen. In der jungen Zooglöe scheinen die zentralen Partieen, in der alten dagegen die peripherischen am besten gefestigt zu sein und dem Auflösen durch Wasser den meisten Widerstand entgegenzusetzen zu können. Auf die Bedeutung der Bildung von Zooglöen, von Bakterienschleim überhaupt für das Vorkommen von *Bact. herbicola aureum* auf grünen Pflanzenteilen und auf Saatmaterial wurde an anderer Stelle schon hingewiesen. Nie wurde Sporenbildung beobachtet.

Eigenbewegung: Die Stäbchen bewegen sich in ganz jungen Kulturen beinahe ausnahmslos sehr lebhaft, entweder gradlinig rasch das Gesichtsfeld kreuzend oder lebhaft schwänzelnd kleine Strecken durchmessend, um wieder kurze Zeit stille zu liegen. Bisweilen bewegen sich die Bakterien wirbelnd um die Querachse. Nicht selten kann man aber auch gemächlich wackelnde Stäbchen bemerken, sowie alle Uebergangsstadien bis zum völligen Unbeweglichsein. In älteren Kulturen aber sind die Bakterien wahrscheinlich zufolge starker Schleimbildung gänzlich unbeweglich.

Färbbarkeit: Mit den gebräuchlichen Färbemitteln leicht färbbar, nicht aber nach Gram.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.***Weitere Untersuchungen über *Uromyces Pisi* (Pers.).**

[Aus dem botanischen Institut Bern.]

Von Dr. E. Jordi, Rätti-Bern.

Nachfolgende Mitteilungen bilden einen Nachtrag zu meinen Versuchen mit Papilionaceen bewohnenden *Uromyces*-Arten, über die im Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten. Abt. II. Bd. XI. 1904. No. 24/25. p. 736 u. ff., berichtet worden ist. Wir haben an jener Stelle bereits angegeben, daß Klebahn¹⁾ und Schroeter²⁾ Kulturversuche mit Aecidien heteröcischer Rostpilze auf *Euphorbia* ausführten; ersterer erzielte durch Aussaat von Sporen, vom *Aecidium* auf *Euphorbia Esula* stammend, einzig auf *Pisum sativum* positive Resultate; letzterer säte wiederholt Sporen, vom *Aecidium* auf *Euphorbia Cyparissias* stammend, auf *Lathyrus pratensis*, *Vicia Cracca* und *Pisum sativum* aus und erhielt hernach auf diesen Papilionaceen positive Resultate. Bei unseren Versuchen mit Aecidiosporen gelang es, durch Aussaat der Sporen des *Aecidiums* auf *Euphorbia Cyparissias* einzig und allein *Vicia Cracca* zu infizieren; nicht befallen wurden bei diesen Versuchen: *Lathyrus pratensis*, *Vicia onobrychioides*, *V. Orobus*, *V. sepium*, *V. angustifolia*, *V. hirsuta*, *Medicago sativa* und *Lotus corniculatus*. Da wir bei einem weiteren Infektionsversuche mit Uredosporen auf *Lathyrus pratensis* vom Typus des *Uromyces Pisi* (Pers.) nur auf *Lat. pratensis* und auf *Pisum sativum*, nicht aber auf *Vicia Cracca*, *V. sativa*, *V. hirsuta*, *V. onobrychioides* und *Lathyrus niger* Bernh. positive Resultate erzielten, so nahmen wir an, die Formen von *Uromyces Pisi* (Pers.) auf *Lathyrus pratensis* und auf *Vicia Cracca* seien biologische Arten; konstante morphologische Unterschiede der Teleuto- und Uredosporen konnten nämlich nicht konstatiert werden. Dieses Resultat war durch weitere Versuche zu erhärten, und zudem suchten wir die Frage nach der Spezialisierung von *Uromyces Pisi* (Pers.) experimentell weiter zu verfolgen.

Vor allem aber soll in folgendem über erfolgreiche Infektionen von *Euphorbia* mit Teleutosporen von *Uromyces Pisi* (Pers.) berichtet werden. Dieselben sind besonders deshalb von Interesse, weil Versuche in dieser Richtung bisher von keiner Seite beschrieben worden sind. Unsere Infektionen von *Euphorbia Cyparissias* mit Teleutosporen von *Ur. Pisi* waren teils im Herbst 1902, teils im Frühjahr 1903 eingeleitet worden. Da aber erst im Frühjahr 1904 sichere Resultate beobachtet wurden, so folgt die Berichterstattung über 2 Gruppen von Versuchen erst jetzt.

1) Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. II. p. 335.

2) Schroeter, J., Pilze. p. 306.

I. Gruppe: Infektionsversuche mit der Form auf *Lathyrus pratensis*.

Versuchsreihe 1.

Eingeleitet am 27. November 1902.

Infektionsmaterial: Teleutosporen auf *Lathyrus pratensis*, gesammelt am 6. November 1902 am Aaredamm im Belpmoos.

Versuchspflanzen.

No. 1—4, gesunde *Euphorbia Cyparissias*, die im August 1902 am Aaredamm im Belpmoos ausgegraben wurden und die damals gesund zu sein schienen.

Infektionsverfahren.

Nachdem an den freigelegten, gereinigten Stengelknospen die Schuppen bezw. Blattanlagen sorgfältig abgehoben worden waren, wurden mit einem Pinsel Teleutosporen unter die Schuppen gebracht; zudem wurden um die jungen Knospen sporentragende *Lathyrus*-Stückchen geschichtet und hernach alles mit Erde sorgfältig zugedeckt.

Resultat.

Während des Sommers 1903 war noch kein Erfolg wahrzunehmen. Im Frühjahr 1904 dagegen zeigte sich folgendes Resultat:

No. 1, *Euphorbia Cyparissias*, zeigte am 5. April die charakteristisch deformierte Sprosse mit Pykniden, am 6. Mai ca. 24 äcidientragende Blätter; die Aecidien sind schön geöffnet.

Die Nummern 2 und 3 bleiben beständig gesund.

No. 4 trägt am 25. März Pykniden; weiter als zur Pyknidenbildung kam diese Pflanze nicht.

Die nichtinfizierten Kontrollpflanzen erweisen sich noch gegenwärtig als gesund.

Wir haben somit durch Infektion mit Teleutosporen auf *Lathyrus pratensis* positive Resultate auf *Euphorbia Cyparissias* erzielt.

Versuchsreihe 2.

Eingeleitet am 12. März 1903.

Infektionsmaterial: gleich dem bei Versuchsreihe 1 verwendeten.

Versuchspflanzen.

No. 1 und 2, gesunde *Euphorbia Cyparissias*, die bei Hofen an der Aare ausgegraben wurden und die damals gesund zu sein schienen.

Infektionsverfahren.

Gleich wie bei Versuchsreihe 1.

Resultat.

No. 1, *Euphorbia Cypariss.*, zeigte am 12. Mai 1903 auf einigen Blättern deformierter Sprosse Pykniden; im Jahre 1903 wurde kein weiteres positives Resultat weder bei dieser noch bei

anderen Reihen beobachtet, deshalb liegt die Vermutung nahe, es sei diese Versuchspflanze beim Eintopfen nicht gesund gewesen, sondern sie sei schon früher im Freien infiziert worden. Am 5. April 1904 traten auf mehreren Blättern Pykniden auf; Aecidien wurden wieder nicht beobachtet.

No. 2, *Euphorbia Cyparissias*, ergab im Jahre 1903 kein positives Resultat; am 5. April 1904 zeigten sich auf Blättern deformierter Sprosse Pykniden und am 6. Mai Aecidien.

Das Ergebnis mit Versuchspflanze No. 1 der 2. Versuchsreihe läßt den Einwand aufkommen, ob nicht auch die Resultate der übrigen erfolgreichen Versuche auf eine spontane Infektion vor dem Eintopfen im Freien zurückzuführen seien. Um diesem Vorwurfe auszuweichen, wurden weitere Versuche mit aus Samen gezogenen Euphorbien gemacht.

Versuchsreihe 3.

Eingeleitet am 22. April 1903.

Infektionsmaterial: gleich wie das bei Versuchsreihe 1 verwendete.

Versuchspflanzen:

No. 1—4. Sämlinge von *Euphorbia Cyparissias* aus Samen von Haage u. Schmidt in Erfurt. Die Sämlinge waren ca. 6 Wochen alt und hatten eine Länge von 10—15 cm; über den Wurzeln am Stengel waren bereits kleine Stengelknospen vorhanden.

Infektionsverfahren.

Das sporentragende *Lathyrus*-Material war etwa 6 Stunden in Wasser aufgeweicht worden. Bei den Versuchspflanzen No. 1 und 2 wurden Teleutosporenlager auf die kleinen Knospen gelegt und mit Erde fest angepreßt; die beiden anderen Versuchspflanzen wurden mit Teleutosporen bestreut und zudem wurden sporentragende Pflanzenteile um die Euphorbien aufgeschichtet und mit Drahtnetz festgehalten.

Resultat.

Während des Jahres 1903 war kein Infektionserfolg wahrzunehmen.

No. 1, *Euphorbia Cypariss.*, zeigte aber am 25. März 1904 charakteristisch deformierte Triebe mit Pykniden; am 6. Mai 1904 hatte diese Versuchspflanze 6 deformierte, offene Aecidien tragende Sprosse.

No. 2 blieb beständig gesund.

Die Nummern 3 und 4 trugen am 13. April 1904 auf deformierten Sprossen viele Pykniden; bei Versuchspflanze No. 3 blieb es bei Pyknidenbildung; No. 4 dagegen hatte am 6. Mai 4 Aecidien tragende Sprosse.

Die Resultate dieser Versuchsreihe stimmen somit überein mit denjenigen der Versuchsreihen 1 und 2.

Bei drei Versuchsreihen gelang es uns also, mit Teleutosporen von *Uromyces Pisi* (Pers.) auf *Lathyrus pratensis* Infek-

tionen von *Euphorbia Cyparissias* zu erzielen; speziell Versuchsreihe 3 ergab ein absolut sicheres Resultat.

Wie hat man sich nun den Verlauf der Infektion zu denken? Die Keimung der Teleutosporen erfolgte in allen Fällen im Frühjahr 1903; in diesem Zeitpunkte waren die Knospen, aus denen sich die Sprosse von 1904 entwickeln sollten, bereits vorhanden. Diese wurden infiziert, und als die Knospen sich im Frühjahr 1904 streckten, wuchs das Mycel ebenfalls und bewirkte die bekannte charakteristische Deformation der Euphorbiensprosse mit den Pykniden und Aeciden. Die so erhaltenen Aecidiosporen wurden nun zu weiteren Versuchen verwendet, um mit Hilfe des aus bekannten Teleutosporen stammenden Infektionsmaterials die Richtigkeit unserer früheren Resultate über die Spezialisierung von *Uromyces Pisi* (Pers.) zu prüfen.

Versuchsreihe 4.

Eingeleitet am 13. Mai 1904.

Infektionsmaterial: Aecidien auf *Euphorbia Cyparissias*, die ich bei den Versuchen 1, 2 und 3 erhalten hatte.

Versuchspflanzen.

No. 1 und 2. *Vicia Cracca* aus Samen von Haage u. Schmidt in Erfurt gezogen.

No. 3. *Vicia Cracca*, bei der Rütli ausgegraben.

No. 4 und 5. *Lathyrus pratensis* aus Samen von Haage u. Schmidt in Erfurt gezogen.

No. 6. *Lathyrus pratensis*, bei der Rütli ausgegraben.

No. 7 und 8. *Pisum sativum* aus Samen.

No. 9 und 10. <i>Astragalus glycy-</i>	} bei Versuchen im Jahre 1903 verwendet, bei denen diese Pflanzen beständig pilzfrei blieben.
<i>phyllus</i>	
No. 11 und 12. <i>Oxytropis montanus</i>	
No. 13. <i>Oxytropis campestris</i>	
No. 14. <i>Oxytropis glabra</i>	

Resultat.

No. 4, 5 und 6, *Lathyrus pratensis*, zeigten am 23. Mai auf mehreren Blättern gelbe Stellen; 2 Tage später, also 12 Tage nach erfolgter Infektion mit Aecidiosporen von der Form auf *Lat. pratensis* stammend, trugen alle 3 *Lathyrus pratensis* viele offene Uredolager, die alle charakteristisch hellgelb gefärbt waren. Alle übrigen Versuchspflanzen sowie auch die Kontrollpflanzen waren bis zum 3. Juli scheinbar pilzfrei. An diesem Tage jedoch traten auf den Nummern 1 und 2, *Vicia Cracca*, dunkelbraun gefärbte Uredolager auf. Diese Uredolager sind zweifellos entstanden infolge einer Infektion mit Aecidiosporen von Aecidien auf *Euphorbia Cyparissias*, der Form auf *Vicia Cracca* angehörend, die am 21. Mai, also 13 Tage vor dem Auftreten des Uredos, aus Versehen mit dem Verstäuber aufgetragen worden waren. Wir könnten vielleicht, gestützt auf das

Resultat dieses wie früherer Infektionsversuche¹⁾, die Form auf *Lathyrus pratensis* als biologische Art von *Uromyces Pisi* (Pers.) betrachten. Um aber das Resultat möglichst einwandfrei vorlegen zu können, wurden noch die beiden Kontrollversuche No. 5 und 11 ausgeführt.

Versuchsreihe 5.

Eingeleitet am 4. Juni 1904.

Infektionsmaterial: Uredosporen auf *Lathyrus pratensis* aus Versuchsreihe No. 4 stammend.

Versuchspflanzen.

No. 1. *Lathyrus pratensis*, bei Rütli-Zollikofen ausgegraben.

No. 2 und 3. *Vicia Cracca*, aus Samen von Haage u. Schmidt in Erfurt gezogen.

No. 4 und 5. *Vicia Cracca*, wie No. 1.

Resultat.

Auf No. 1, *Lathyrus pratensis*, beobachteten wir am 16. Juni mehrere zerstreute Uredolager. Sämtliche *Vicia Cracca* blieben beständig pilzfrei (dieses Resultat beweist wohl vollständig die Richtigkeit unserer Vermutung, die Infektion der *Vicia Cracca* in Versuchsreihe No. 4 sei infolge der aus Versehen bewirkten Bestreuung mit *Aecidiosporen* von der Form auf *Vicia Cracca* entstanden) und somit können die Form *Lathyrus pratensis* und die Form auf *Vicia Cracca* als spezialisierte Formen betrachtet werden.

Gestützt auf diese sowie auf Resultate früherer Versuche können wir den Pilz auf *Lathyrus pratensis* als biologische Art von *Uromyces Pisi* (Pers.) betrachten.

II. Gruppe; Infektionsversuche mit der Form auf *Vicia Cracca*.

Versuchsreihe 6.

Eingeleitet am 2. Dezember 1902.

Infektionsmaterial: Teleutosporen auf *Vicia Cracca* am 15. November am Aaredamm im Belpmoos gesammelt.

Versuchspflanzen.

No. 1—4, *Euphorbia Cyparissias*, gleicher Herkunft wie die Pflanzen der Versuchsreihe 1.

Infektionsverfahren.

Aehnlich wie bei der ersten Reihe, nur wurden die alten *Euphorbia*-Stengel dicht über der Erde abgeschnitten und nach dem Auftragen der Sporen auf die Knospen sämtliche Töpfe mit Baumwolltuch zugebunden.

1) Vergl. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XI. 1904. p. 780 u. 781.

Resultat.

Kontrollen während des Jahres 1903 ergaben noch kein positives Resultat, erst im Frühjahr 1904 zeigte sich folgendes:

Die Nummern 1 und 3, *Euphorbia Cyparissias*, blieben beständig gesund, ebenso die der Kontrolle dienenden Euphorbien.

No. 2 zeigte am 6. Mai 1904 2 bleiche und auch etwas deformierte Sprosse mit Pykniden; Aecidien bildeten sich auf dieser Pflanze nicht aus.

No. 4 zeigte am gleichen Tage 4 deformierte Sprosse mit Aecidien.

Versuchsreihe 7.

Eingeleitet am 10. März 1903.

Infektionsmaterial: wie bei der vorigen Versuchsreihe.

Versuchspflanzen.

No. 1 und 2, *Euphorbia Cyparissias*, gleicher Herkunft wie die Pflanzen der 1. Versuchsreihe.

Infektionsverfahren.

Gleich wie bei der 1. Versuchsreihe.

Resultat.

Während des Sommers 1903 wurde noch kein Infektionserfolg wahrgenommen; ein solcher war erst wieder im Frühjahr 1904 sichtbar.

No. 1, *Euphorbia Cypar.*, zeigte am 25. März 1904 deformierte Sprossen mit verstreuten Pykniden; am 5. April hatte diese Pflanze auf vielen Blättern Pykniden; am 6. Mai zählten wir 20 deformierte, äcidientragende und 2 gesunde Sprossen.

No. 2 trug am 5. April auf deformierten Sprossen verstreute Pykniden. Aecidien wurden keine ausgebildet.

Dieses Resultat bestätigt dasjenige der vorigen Reihe. — Es wurden auch mit der Form auf *Vicia Cracca* Versuche ausgeführt mit *Euphorbia*-Sämlingen, die wir aus Samen gezogen hatten.

Versuchsreihe 8.

Eingeleitet am 27. April 1903.

Infektionsmaterial: gleich demjenigen der Versuchsreihen 6 und 7.

Versuchspflanzen.

No. 1—4. Sämlinge von *Euphorbia Cyparissias*, gleicher Herkunft wie diejenigen der 3. Versuchsreihe.

Infektionsverfahren.

Die Euphorbien wurden ausgegraben und in einen Teller auf feuchtes Filtrierpapier gelegt; darüber wurde sporentragendes *Vicia*-Material ausgebreitet; nach 8 Tagen wurden sämtliche Pflänzchen wieder eingetopft.

Resultat.

Positive Infektionserfolge wurden erst im Jahre 1904 beobachtet.

No. 1 und 3 zeigten deformierte Sprossen und am 13. April 1904 auf mehreren Blättern Pykniden; ebenso die

No. 2 am 6. Mai 1904. Aecidien wurden dagegen auf keiner Pflanze ausgebildet.

No. 4 blieb beständig gesund.

Dieses Resultat stimmt mit demjenigen der übrigen Versuchsreihen mit der Form auf *Vicia Cracca* überein.

Versuchsreihe 9.

Eingeleitet am 21. April 1903.

Infektionsmaterial: gleich wie das bei Versuchsreihe 6 verwendete.

Versuchspflanzen.

No. 1—4, *Euphorbia Cyparissias*, gleicher Herkunft wie die Versuchspflanzen der Reihe 3.

Infektionsverfahren.

Bei Topf No. 1 und 2 wurden die sporentragenden *Vicia*-Stücke um die kleinen Stengelknospen geschichtet, ebenso bei Topf No. 3 und 4, zudem wurden bei diesen beiden Versuchspflanzen Sporen über die Pflanzen gestreut; die sporentragenden *Vicia*-Stücke wurden mittels Drahtnetz den Euphorbien angepreßt.

Resultat.

No. 1, 3 und 4, *Euphorbia Cyparissias*, und ebenso die Kontrollpflanzen blieben beständig gesund. Infektionserfolge wurden erst 1904 wahrgenommen.

No. 2 trug nämlich am 6. Mai 1904 auf 2 charakteristisch deformierten Sprossen Pykniden.

Dieses Resultat bestätigt die Ergebnisse der Versuchsreihe 8. — Es gelang also auch, mit Teleutosporen, von *Vicia Cracca* stammend, *Euphorbia Cyparissias* zu infizieren. Der Hergang dürfte der gleiche sein wie bei der Infektion mit Material von *Lathyrus pratensis*. Zur Kontrolle wurden auch hier wieder Infektionsversuche mit den so gewonnenen Aecidio- resp. Uredosporen ausgeführt.

Versuchsreihe 10.

Eingeleitet am 14. Mai 1904.

Infektionsmaterial: Aecidien auf *Euphorbia Cyparissias*, die erhalten wurden aus einer Infektion mit Teleutosporen, von *Vicia Cracca* stammend.

Versuchspflanzen.

No. 1 und 2, *Vicia Cracca*, aus Samen von Haage u. Schmidt in Erfurt.

No. 3 und 4, *Vicia Cracca*, bei Rütli-Zollikofen ausgegraben.

No. 5 und 6, *Lathyrus pratensis*, aus Samen von Haage u. Schmidt in Erfurt.

No. 7 und 8, *Lathyrus pratensis*, bei Rütli-Zollikofen ausgegraben.

No. 9 und 10, *Pisum sativum*, aus Samen.

No. 11, *Oxytropis campestris*

No. 12 und 13, *Astragalus glycyphyllus* } wurden im Jahre 1903
bei Infektionsversuchen
verwendet, wobei sie
pilzfrei blieben.

No. 14, *Vicia silvatica*

Resultat.

Die Nummern 1 und 2 trugen am 27. Mai offene Uredolager; somit ist die Entwicklungsdauer für Uredobildung die gleiche wie die im 4. Versuche mit dem Pilz auf *Vicia Cracca*.

Die Nummern 3 und 4, welche kurz vor dem Einleiten des Versuches eingetopft wurden, starben ab. Alle übrigen Versuchspflanzen blieben gesund. Bei diesem Versuche ging die Form auf *Vicia Cracca* also nur auf diese Pflanze, nicht aber auf *Lathyrus pratensis* oder auf andere Papilionaceen über. — Bei einem weiteren Versuche erhielten wir genau das gleiche Resultat.

Versuchsreihe 11.

Eingeleitet am 6. Juli 1904.

Infektionsmaterial: Uredosporen auf *Vicia Cracca*, von Versuchsreihe 9 stammend.

Versuchspflanzen.

No. 1, *Vicia Cracca*, bei Rütli-Zollikofen ausgegraben.

No. 2, *Vicia Cracca*, aus Samen von Haage u. Schmidt in Erfurt.

No. 3, *Lathyrus pratensis*, Herkunft wie No. 1.

No. 4—6, *Lathyrus pratensis*, Herkunft wie No. 2.

Resultat.

No. 2, *Vicia Cracca*, trägt am 20. Juli Uredosporen.

No. 1, *Vicia Cracca*, litt stark infolge hoher Temperatur im Gewächshaus.

Die Nummern 3—6, *Lathyrus pratensis*, blieben beständig gesund.

Bei diesem Kontrollversuche erzielten wir also durch Infektion mit Uredosporen auf *Vicia Cracca* nur auf dieser Pflanze ein positives Resultat. (Wir betrachten hiermit die Richtigkeit unserer Vermutung, die Infektion der *Vicia Cracca* in Versuchsreihe No. 4 sei infolge der aus Versehen bewirkten Bestreuung mit Aecidiosporen von der Form auf *Vicia Cracca* entstanden, als bewiesen.)

Die positiven Resultate der Infektionsversuche No. 6—11 stimmen mit denjenigen früher ausgeführter Versuche überein (l. c. p. 780 u. 781).

Die Form auf *Vicia Cracca* ist biologisch scharf verschieden von derjenigen auf *Lathyrus pratensis*.

Es fragt sich nun, ob wirklich zwischen den beiden Formen keine morphologischen Unterschiede vorhanden sind. Es wurden sowohl die deformierten, pykniden- und äcidientragenden Euphorbiensprosse wie auch nochmals die Uredo- und Teleutosporen beider Formen sorgfältig verglichen. Am 6. Mai 1904 wurden folgende Unterschiede deformierter Sprosse beobachtet: Die Euphorbien, welche mit der Form auf *Lathyrus pratensis* infiziert worden waren, waren stärker deformiert als die Euphorbien der 2. Versuchsgruppe. Zudem waren viele ihrer Aecidien schön geöffnet und warfen zahlreiche Sporen aus. Messungen ergaben eine durchschnittliche Blattlänge von 10,9 mm und eine mittlere Blattbreite von 2,9 mm. Die Euphorbien der 2. Versuchsgruppe (Infektion mit Teleutosporen auf *Vicia Cracca*) waren weniger deformiert und ihr Habitus wich von demjenigen gesunder Euphorbien nicht so stark ab. Es ergab sich aus Messungen von Blättern, Euphorbien der 2. Gruppe angehörend, eine mittlere Blattlänge von 15,8 mm und eine mittlere Blattbreite von 2,7 mm und es besaßen diese Euphorbien am 6. Mai nur Pykniden. Gesunde Euphorbien zeigten Blattlängen von durchschnittlich 22 mm und Blattbreiten von 2,3 mm. Bei den untersuchten Uredo- und Teleutosporen wurden konstante Unterschiede nicht bemerkt, nur in der Größe zeigte sich ein kleiner Unterschied, die die Form auf *Lathyrus pratensis* Teleutosporen hat, die meist durchschnittlich 4 μ kürzer und 2,3 μ schmaler sind als die Teleutosporen der Form auf *Vicia Cracca*. Diese kleine Verschiedenheit erschien uns aber als zu unbedeutend, und wir betrachten den Pilz auf *Lathyrus pratensis* und den Pilz auf *Vicia Cracca* als 2 verschiedene biologische Arten von *Uromyces Pisi* (Pers.).

Die Unterschiede der beiden Formen sind also fast ausschließlich nur biologische, nämlich bestehend:

- 1) in der Wahl der Uredo- resp. Teleutosporen-Nährpflanze,
- 2) in etwas früherer Reife der Aecidien bei der Form auf *Lathyrus pratensis*,
- 3) vielleicht in etwas abweichender Deformation der Euphorbien,
- 4) kommt vielleicht dazu ein kleiner Größenunterschied der Teleutosporen.

Bern, im Juli 1904.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis der Umbelliferen bewohnenden Puccinien.

Von **Franc. Ottavio Semadeni**, Poschiavo-Graubünden.

Mit 5 Figuren.

Einleitung.

Vorliegende Arbeit wurde auf Veranlassung von Prof. Ed. Fischer im Botanischen Institut in Bern ausgeführt. Ursprünglich hatte ich die Absicht, die Umbelliferen bewohnenden Puccinien einer morphologischen und experimentellen Untersuchung zu unterziehen. Es wurde zu diesem Zwecke bereits im Sommer 1902 eine Reihe von Vorversuchen unternommen. Die im Herbst des gleichen Jahres erschienene Arbeit von J. J. Lindroth: „Umbelliferen-Uredineen“ hat nun aber unter anderem das von mir Erstrebte, soweit es sich um die morphologischen Verhältnisse handelt, der Hauptsache nach erreicht. Da aber Lindroth keine Experimente ausgeführt hat, so blieb für später noch vorzunehmende Versuche die Aufgabe bestehen, die betreffenden Angaben Lindroths experimentell zu prüfen, sowie zu untersuchen, ob die von Lindroth nach morphologischen Merkmalen unterschiedenen Arten auch biologisch als einheitlich sich erweisen. Zur Beantwortung dieser Frage wurden im Sommer 1903 zahlreiche weitere Infektionsversuche ausgeführt.

Außerdem stellte ich mir die Aufgabe, durch fernere Experimente einige Aufschlüsse zu erhalten über die in unseren Alpen *Polygonum Bistorta* und *Polygonum viviparum* bewohnenden Puccinien, deren Aecidien auf Umbelliferen leben. Ueber die Resultate einiger Versuche ist schon früher im Centralbl. f. Bakt. etc. vorläufig berichtet worden.

Bern, Botanisches Institut, Dez. 1903.

I. Kapitel.

Geschichtliches.

Von den älteren Autoren, welche die Uredineen auf Umbelliferen beschrieben haben, seien an dieser Stelle bloß Persoon und de Candolle genannt.

Während Fuckel¹⁾ in seinen „Beiträgen zur Kenntnis der rheinischen Pilze“, gestützt auf die Merkmale des *Aecidium*-Baues, die Umbelliferen bewohnenden Puccinien mit länglichen, gleichförmig zweiteiligen, an beiden Enden stumpfen, in der Mitte eingeschnürten und mit einem sehr kurzen Stiel versehenen Teleutosporen in mehrere Species trennt, vereinigt Winter²⁾

1) Fuckel, *Symbolae Mycologicae*. (Beiträge zur Kenntnis d. rhein. Pilze.)

2) Winter, *Pilze*. (Rabenhorsts Kryptogamenflora. 1884.)

in seinem Werke „Die Pilze Deutschlands, Oesterreichs und der Schweiz“, die Merkmale aller Sporenformen berücksichtigend, mehrere dieser Species zu einer einzigen Art. So beschreibt er eine *Puccinia bullata* (Pers.), eine *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart. etc. und gibt bei jeder Art eine Anzahl Nährpflanzen an. Aehnlich verfährt auch Schroeter¹⁾ in seiner Bearbeitung der Pilze Schlesiens. Auf Grund eigener Beobachtungen und solcher von Rostrup, Fuckel und von anderen unterscheidet er folgende Arten: *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart., *Puccinia bullata* (Pers.), *Puccinia Oreoselini* (Strauss) Fuck., *Puccinia Cicutae* und *Puccinia Sii-Falcariae* (Pers.). Von ihm stammt ferner die erste Beschreibung der *Puccinia mamillata* Schroeter, deren Uredo- und Teleutosporen, die nach Versuchen, welche später noch in dieser Arbeit darzustellen sind, auf *Polygonum Bistorta* und auf *Polygonum viviparum* leben und mit dem *Aecidium Mei* Schroeter auf *Meum Mutellina* genetisch verbunden sind.

Von den neuesten Autoren seien genannt: Juel²⁾ mit seinen „Mikroskopischen Merkmalen einiger auf Umbelliferen wachsenden Aecidien“ und Bubák³⁾ mit der Arbeit „Ueber einige Umbelliferen bewohnende Puccinien“. Ersterer teilt die ihm bekannten schwedischen Umbelliferen-Uredineen nach bestimmten Aecidienmerkmalen in 6 verschiedene Gruppen ein, letzterer behandelt die Systematik der Mikropuccinien vom Typus der *Puccinia Aegopodii* (Schum.) Mart., wobei er die Form und Farbe des Sporenlagers, sowie die Lage des Keimporus der Basalzelle berücksichtigt. Das Verdienst aber, Ordnung und klare Uebersichtlichkeit in dieser Pilzgruppe geschaffen zu haben, gebührt ohne Zweifel Lindroth⁴⁾. Bei seiner Darstellung der gegenseitigen Verwandtschaft der Umbelliferen-Uredineen betrachtet er als grundlegend die Merkmale der Teleutosporen. Erst in zweiter oder in dritter Linie kommen für ihn die Charaktere der Aecidien- und Uredosporengeneration in Betracht. Sein Verfahren motiviert er durch die Tatsache, daß die Teleutosporen der Uredineen die konstanteste und für das Erhalten der Art wichtigste Sporenform bilden. Ueber die Vorteile seines Systems gegenüber denen älterer Systeme, speziell desjenigen Schröters, spricht er sich folgendermaßen aus⁵⁾: „Daß man allen Sporenformen der Uredineen denselben systematischen Wert nicht zurechnen kann, zeigt ohne weiteres das von Schroeter aufgestellte System, das ein ganz künstliches ist, und wo einander sehr nahestehende Arten weit voneinander gerissen und

1) Schroeter, Pilze Schlesiens. (Cohns Kryptogamenflora von Schlesien. 1889.)

2) Juel, Mykologische Beiträge. VI. (Öfversigt af Kongl. Vetenskaps-Akademiens Förhandl. Stockholm. 1899. No. 4.)

3) Bubák, Ueber einige Umbelliferen bewohnende Puccinien. (Sep.-Abdr. a. d. Sitzungsber. d. Kgl. böhm. Gesellsch. d. Wissensch. in Prag. 1900.)

4) Lindroth, Umbelliferen-Uredineen. (Acta Soc. pro F. et Fl. Fennica. T. XXII. No. 1.)

5) l. c. p. 179.

gar nicht verwandte Arten nebeneinander gestellt werden.“ Sein Verfahren ermöglicht ihm also, eine genaue morphologische Spezialisierung der meisten Rostpilze auf Umbelliferen durchzuführen einerseits und andererseits für diese Pilzgruppe die Aufstellung eines natürlicheren Systems als die früheren. Bloß in wenigen Fällen muß er sich mit der Aufstellung von provisorischen Arten begnügen, nämlich dort, wo ihm zur Untersuchung kein vollständiges Sporenmaterial vorliegt. In jenen Fällen unterläßt er aber nicht, besonders zu bemerken, es sei späteren morphologischen, resp. biologischen Arbeiten anheimgestellt, die betreffenden Untersuchungen zu ihrem definitiven Abschlusse zu bringen. Schließlich sei noch daran erinnert, daß er an verschiedenen Orten die Notwendigkeit der Kulturversuche betont, als Mittel, seine Resultate zu prüfen, eventuell zu berichtigen, sowie die Frage der Sammel-species, resp. biologischen Arten zu lösen.

Es erübrigt mir noch, in aller Kürze auf das, was in letzter Zeit auf experimentellem Wege auf diesem Gebiete erreicht wurde, hinzuweisen. Sopitt¹⁾ fand eine *Puccinia* auf *Polygonum Bistorta*, welche ihre Aecidien auf der Umbellifere *Conopodium denudatum* bildet. Juel²⁾ beschreibt eine *Puccinia Polygoni vivipari* Karst., deren Aecidienwirt nach von ihm ausgeführten Experimenten *Angelica silvestris* ist. Klebahn³⁾ hat uns durch eine Reihe von interessanten Versuchen gezeigt, daß die in Deutschland vorkommende *Puccinia Bistortae* Strauss, deren Uredo- und Teleutosporen sich auch spärlich auf *Polygonum-viviparum* entwickeln können, ihre Aecidien nicht auf *Conopodium denudatum* bildet, wohl aber auf *Carum Carvi* und in größerer Masse auf *Angelica silvestris*, ein Resultat, das übrigens durch seine Beobachtungen im Freien bestätigt wurde. Er nennt daher diese *Puccinia* *Puccinia Angelicae-Bistortae* Kleb. und drückt somit aus, daß der eigentliche Aecidienwirt *Angelica silvestris* und nicht *Carum Carvi* sei. Aus seinen letzten⁴⁾ in dieser Richtung ausgeführten Versuchen geht hervor, daß die *Puccinia Polygoni-vivipari* Karst. ebenfalls *Polygonum Bistorta*, wenn auch nur in schwachem Grade, zu infizieren vermag. Andere Versuche von ihm haben ferner die Vermutung Rostrups⁵⁾ bewiesen, nach welchen das *Aecidium Pastinacae* Rostrup im Zusammenhange steht mit einem *Uromyces* auf *Scirpus maritimus*. Außerdem konnte er mit *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart., von *Pimpinella magna* stammend, bloß *Pimpinella magna* mit

1) Nach Klebahn, Kulturversuche mit heteroecischen Rostpilzen. 5. Ber. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VI.)

2) Mykologische Beiträge. VI. (Öfversigt af Kongl. Vetenskaps-Akademiens Förhandl. Stockholm. 1899. No. 1.)

3) Kulturversuche mit heteroecischen Rostpilzen. 5., 6., 7., 10. Bericht. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh.); ferner 8. u. 9. Bericht. (Jahrb. f. wissensch. Botanik. Bd. XXXIV u. XXXV.)

4) Kulturversuche mit Rostpilzen. 11. Bericht. (Jahrb. d. Hamb. wissensch. Anstalten. Bd. XX. 1902. 3. Beiheft: Arb. bot. Institute.)

5) Rostrup, Botanik Tidskrift. Bd. XVIII. 1892. p. 71.

Erfolg infizieren, während er auf *Conium maculatum* und auf *Anthriscus silvestris* kein Resultat erzielte.

Jacky¹⁾ fand, daß die *Micropuccinia* auf *Imperatoria Ostruthium Astrantia major* und *minor* nicht befällt. Schließlich hat Prof. Ed. Fischer²⁾ gezeigt, daß die in der Schweiz vorkommende *Puccinia Bistortae* (Strauss) ihre Aecidien auf *Carum Carvi* bildet, daß sie also identisch ist mit der von Klebahn beschriebenen *Puccinia Cari-Bistortae* Kleb. Durch mikroskopische Untersuchungen stellte er fest, daß die Teleutosporen obiger *Puccinia* sich von denjenigen, die in unseren Alpen häufig auf *Polygonum viviparum* vorkommen, durch ihre Größe bedeutend unterscheiden.

II. Kapitel.

Infektionsversuche und deren Ergebnisse.

In diesem Kapitel sollen die Infektionsversuche, die in den Jahren 1902 und 1903 ausgeführt wurden, zur Darstellung gebracht werden. Als Infektionsmaterial verwendete man vor allem Teleutosporen, die im Sommer und Herbst 1902 im Freien gesammelt wurden, sowie die in sämtlichen Versuchen aus ihnen gewonnenen Aecidio- und Uredosporen. Außerdem gelangte noch zur Verwendung im Freien gesammeltes Aecidio- und Uredosporenmaterial. Das letztere betrifft in erster Linie die Versuche vom Jahre 1902. Mit genanntem Material wurden jeweiligen Sämlingspflanzen, deren Samen aus verschiedenen botanischen Gärten und aus der schweizerischen Samenuntersuchungsanstalt in Zürich stammte, sowie längere Zeit kultivierte, stets in Töpfen gehaltene Pflanzen infiziert.

Den Leitern der betreffenden Gärten, sowie den Herren Dr. Stebler und Dr. Volkart in Zürich spreche ich für das mir gütigst gelieferte Versuchsmaterial meinen herzlichsten Dank aus.

Die Versuche wurden folgendermaßen eingeleitet: Die nötigen Versuchspflanzen wurden in ein Zimmer gebracht, hernach aus den sporentragenden Blättern die am stärksten infizierten Blätterpartien herausgeschnitten und in ein bis zur Hälfte mit Wasser gefülltes Glas geworfen. Durch starkes Schütteln des Gefäßes gelang es, die aus den Lagern herausgeschleuderten Sporen im Wasser aufzufangen und so bequem mittelst eines kleinen Pulverisators auf die zu infizierenden Pflanzen zu bringen. Darauf wurde die Pflanze während 5—8 Tagen unter eine mit Filtrierpapier ausgekleidete, feucht gehaltene Glasglocke gestellt und nachher in ein Gewächshaus gebracht, woselbst sie bis zum Versuchsabschluß verblieb.

Um eine Fremdinfection (Verunreinigung) zu vermeiden, hielt man die Versuchspflanzen verschiedener Infektionsversuche sowohl

1) Jacky, E., Untersuchungen über einige Rostpilze. (Berichte d. schweiz. bot. Gesellsch. 1899. Sep. p. 20.)

2) Fischer, Ed., Fortsetzung der entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen über Rostpilze. (Separatabzug a. d. Ber. d. schweiz. bot. Gesellsch. 1902. Heft 12.)

im Zimmer als auch später in den Gewächshäusern sorgfältig voneinander getrennt. Ferner sei noch bemerkt, daß an einem und demselben Tage nur eine Versuchsreihe gleicher oder verwandter Art kontrolliert wurde.

Während meiner Abwesenheit in den Monaten August und September des Jahres 1902 und 1903 übernahmen in gütigster Weise die Herren Th. Wurth und E. Jordy die Kontrollierung meiner Versuche, sowie das Einsammeln und Aufbewahren des Materiales. An dieser Stelle sei ihnen deshalb bestens gedankt.

Bei der Darstellung der Infektionsversuche soll im großen und ganzen die Einteilung Lindroths befolgt werden, der, gestützt auf die Skulptur der Teleutosporenmembran, die Umbelliferen bewohnenden Puccinien in „Reticulatae“, „Psorodermæ“, „Bullatae“ etc. einteilt.

Was die Experimente vom Jahre 1902 anbelangt, so mag vielleicht auffallen, daß als Versuchspflanzen die verschiedensten Umbelliferengattungen verwendet wurden. Dies rührt daher, daß damals die Lindrothsche Arbeit¹⁾ noch nicht erschienen war. Deshalb mußten die Versuchsobjekte aufs Geratewohl unter den verschiedenen Umbelliferen gewählt werden, wenn man nicht Gefahr laufen wollte, nur gestützt auf die Angaben der früheren Autoren, unvollständige, resp. einseitige Resultate zu erzielen. Andererseits muß noch hervorgehoben werden, daß die Versuche von 1903 nicht alle Angaben Lindroths in Bezug auf die Nährpflanzen der verschiedenen Pilze berücksichtigen konnten, weil entweder die Samen der betreffenden Versuchspflanzen nicht erhältlich oder die Pflanzen selber vor der Versuchseinrichtung zu Grunde gegangen waren. Deshalb und weil ferner nur mit einem verhältnismäßig geringen Pilzmaterial und nur mit schweizerischen Arten gearbeitet werden konnte, wird über die vorliegende Arbeit in dieser Frage nicht das letzte Wort gesprochen.

A. Autoecologische Arten.

I. Reticulatae.

1. *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart.

Als *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart. beschreibt Lindroth²⁾ den Pilz, der auf *Pimpinella*-Arten vorkommt. Nach seinen Angaben³⁾ unterscheidet sich diese *Puccinia* von den übrigen nach früheren Autoren (Winter-Schroeter) ebenfalls zu *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart. gerechneten Arten unter anderem durch ihre Uredosporen, die gewöhnlich 2, selten 3 Keimporen besitzen. Zwar bemerkt er⁴⁾, daß genannte *Puccinia*, morphologisch genommen, nicht ganz homogen sei, da

1) Lindroth, Umbelliferen-Uredineen. (Acta soc. pro F. et Fl. Fennica. T. XXII. No. 1.)

2) l. c. p. 28—33.

3) l. c. p. 28.

4) l. c. p. 33.

die Anzahl der Keimporen der Uredosporen schwanke und in der Größe, Dicke, sowie in der Beschaffenheit der Membranskulpturen der Teleutosporen Abweichungen vorkämen. Indessen glaubt er, daß obige Schwankungen nicht genügen, um morphologisch verschiedene Arten zu begründen. Kulturversuche mit diesem Pilze scheinen mit Ausnahme von denjenigen Klebahns (II. p. 404), worin er zeigt, daß die auf *Pimpinella magna* lebende *Puccinia* nicht identisch ist mit einer solchen auf *Anthriscus silvestris*, meines Wissens, keine ausgeführt worden zu sein.

Die im folgenden darzustellenden Versuche bezwecken, die Angaben Lindroths und Klebahns zu prüfen, sowie festzustellen, ob vielleicht nicht genannte *Puccinia* sich in weitere Arten zerlegen lasse oder nicht.

I. Infektionsversuch mit Uredosporen von *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart., von *Pimpinella magna* stammend.

Am 27. Juni 1902 fand ich bei Muri, Kanton Bern, auf mehreren Blättern von *Pimpinella magna* Uredosporen der *P. Pimpinellae* (Strauss) Mart. Am 28. Juni wurde mit genanntem Materiale ein Infektionsversuch mit folgenden Pflanzen eingeleitet:

- | | |
|--|--|
| I 1. <i>Pimpinella saxifraga</i> | } gezogen 1902 aus Samen vom Berner bot. Garten. |
| I 2. " " | |
| I 3. " " | |
| I 4. " anisum | |
| I 5. " " | |
| I 6. <i>Chaerophyllum aureum</i> | } im Juni 1902 in der Nähe des Berner botan. Garten ausgegraben und eingetopft. |
| I 7. " " | |
| I 8. <i>Anthriscus silvestris</i> | |
| I 9. <i>Anthriscus silvestris</i> | } an einem Rain des Bern. bot. Gartens einige Tage vor Einleitung d. Vers. ausgegr. u. eingetopft. |
| I 10. <i>Meum Mutellina</i> | |
| I 11. <i>Athamantia cretensis</i> | } im Berner botanischen Garten kultiviert. |
| I 12. <i>Heracleum Spondylium</i> | |
| I 13. <i>Bupleurum falcatum</i> , aus dem Jura. | |
| I 14. <i>Falcaria Rivini</i> , im Berner botanischen Garten kultiviert. | |
| I 15. <i>Sanicula europaea</i> , im Juni 1902 am Belpberg bei Bern ausgegraben und eingetopft. | |
| I 16. <i>Angelica silvestris</i> , im Juni 1902 bei Bern ausgegraben und eingetopft. | |
| I 17. <i>Conium maculatum</i> | } im Berner botanischen Garten kultiviert. |
| I 18. <i>Coriandrum sativum</i> | |
| I 19. <i>Apium graveolens</i> | |
| I 20. <i>Astrantia major</i> | |
| I 21. <i>Carum Carvi</i> | |

Leider konnte in dieser Versuchsreihe *Pimpinella magna* nicht verwendet werden, da mir diese zur Zeit der Versuchseinrichtung nicht zur Verfügung stand.

Am 9. Juli wurden die Pflanzen zum ersten Male untersucht. Die Exemplare von *Pimpinella anisum* (I 4 und I 5) fanden sich als verwelkt vor. *Anthriscus silvestris* (I 9) ließ an der Unterseite einiger Blattabschnitte zerstreute, gut entwickelte Uredolager erkennen, während sich das übrige Material (I 1—I 7 und I 10—I 21) als pilzfrei erwies. Später vorgenommene Kontrollierungen ergaben das gleiche Resultat. Dabei soll noch bemerkt werden, daß an I 9 die Zahl der Uredolager sich nicht

wesentlich veränderte. Der Umstand, daß kaum 11 Tage nach eingeleitetem Versuche I 9 schon gut entwickelte Uredolager trug, während bei später darzustellenden Versuchen die Inkubationszeit mindestens 12—14 Tage betrug, ließ annehmen, daß die Infektion bei *Anthriscus silvestris* (I 9) schon vor dem 28. Juni erfolgt sein mußte, und zwar zu einer Zeit, wo genannte Umbellifere sich noch im Freien befand. Daraufhin wurde, da I 9 in diesem Versuche keine Kontrollpflanzen zur Verfügung standen, die Stelle, aus der *Anthriscus* stammte, genau untersucht. Dort konnte man auf einigen Exemplaren von *Anthriscus silvestris* in spärlicher Zahl Uredolager von *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart. beobachten. Ohne Zweifel rührte also die Infektion auf I 9 von der im Freien auf *Anthriscus silvestris* beobachteten *Puccinia* her. Die Tatsache, daß das andere Exemplar von *Anthriscus silvestris* (I 8) keine Infektion aufwies, läßt sich nur dadurch erklären, daß es im Freien an einer Stelle wuchs, in deren unmittelbarer Nähe *Puccinia Pimpinellae* sich nicht vorfand, und so der Keim zur Infektion auf dessen Blätter nicht gelangen konnte. Der Einwand aber, die Uredolager auf I 9 möchten zum Teil von einer Infektion seitens des Versuches I stammen, läßt sich beseitigen, da am 11. und 14. Juli vorgenommene Beobachtungen keine Zunahme des Uredos feststellen konnten, was geschehen sein mußte, wenn noch am 28. Juni Sporen auf *Anthriscus silvestris* gelangt wären. Mit anderen Worten, die Infektion des Versuches I erzielte auf *Anthriscus silvestris* kein Resultat. Indessen das negative Ergebnis auf *Pimpinella saxifraga* mußte auffallen. Es läßt sich diese Tatsache nur auf zwei Wege erklären. Entweder haben die Uredosporen nicht gekeimt, oder sie sind auf irgend eine Art und Weise an ihrem Eindringen in die Blätter von *Pimpinella saxifraga* gehindert worden. Als die wahrscheinlichere Ansicht erscheint nun die letztere, da die Uredosporen in vollkommenem Zustande waren und ihr Keimen an Objektträgerversuchen beobachtet wurde. Wenn also die Keimschläuche nicht eingedrungen sind oder wenigstens nicht im stande waren, ein Mycel zu erzeugen, so scheint das zu sprechen entweder für eine Immunität von *Pimpinella saxifraga* gegen die Uredosporen von *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart., von *Pimpinella magna* stammend, oder dafür, daß die Blätter von *Pimpinella saxifraga* zur Zeit der Sporenauftragung noch nicht infektiösfähig waren. Letzteres scheint nun hier der Fall zu sein, da die in den Töpfen I 1, I 2 und I 3 verwendeten *P. saxifraga* aus jungen Sämlingspflanzen bestanden, deren Blätter zur Zeit der Versuchseinleitung nur schwach entwickelt waren, somit ein Eindringen der Keimschläuche wahrscheinlich wegen der ungenügend ausgebildeten Spaltöffnungen nicht stattfinden konnte. Daß es sich hier wirklich nicht um eine Immunität s. s. handeln kann, geht aus der Tatsache hervor, daß in den später darzustellenden Versuchen *Pimpinella saxifraga*, von der *Puccinia* von *Pimpinella magna* stammend, infiziert wurde.

Aus Versuch I scheint also hervorzugehen, daß die auf *Pimpinella magna* lebende Form der *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart. auf andere Umbelliferengattungen nicht übergeht.

II. Infektionsversuch mit Uredosporen von *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart., von *Pimpinella magna* stammend.

Am 15. Juli 1902 wurden mit in Muri (Kanton Bern) gesammelten Uredosporen von *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart., von *Pimpinella magna* stammend, folgende Pflanzen besät:

- | | | |
|-------------------------------------|---|--|
| II 1. <i>Pimpinella magna</i> | } | im Juli 1902 in der Nähe von Bern ausgegraben und eingetopft. |
| II 2. " " | | |
| II 3. " " | | |
| II 4. " " | | |
| II 5. " " | | |
| II 6. <i>Pimpinella magna</i> | } | im Juli 1902 in der Nähe von Bern ausgegraben und eingetopft. |
| II 7. " " | | |
| II 8. <i>Chaerophyllum aureum</i> | } | im Juli 1902 in der Nähe von Bern ausgegraben und eingetopft. |
| II 9. <i>Anthriscus silvestris</i> | | |
| II 10. <i>Athamanta cretensis</i> | | im Berner botanischen Garten kultiviert. |
| II 11. <i>Meum Mutellina</i> | } | im Berner botanischen Garten kultiviert. |
| II 12. " " | | |
| II 13. " <i>athamanticum</i> | | |
| II 14. " " | | |
| II 15. <i>Heracleum Spondylium</i> | | |
| II 16. <i>Bupleurum falcatum</i> | | aus dem Jura. |
| II 17. <i>Angelica silvestris</i> | | im Juni 1902 bei Bern ausgegraben und eingetopft. |
| II 18. <i>Peucedanum palustre</i> | | im Juni 1902 bei Blumenstein (Kanton Bern) ausgegraben und eingetopft. |
| II 19. <i>Aegopodium Podagraria</i> | | im Berner botanischen Garten kultiviert. |

Am 28. Juli wurde der Versuch kontrolliert. Es stellte sich heraus, daß 2 Exemplare von *Pimpinella magna* (II 6 u. II 7) verwelkt waren. Einen Erfolg hatte die Infektion bloß auf *Pimpinella magna* (II 1—II 5) gehabt, deren Blattabschnitte mit jungen Uredolagern versehen waren. Das übrige Material war pilzfrei geblieben. Spätere Beobachtungen bestätigten das Resultat. Auch dieser Versuch scheint beweisen zu wollen, daß die *Puccinia* von *Pimpinella magna* auf anderen Umbelliferen nicht zu leben vermag.

Das Ergebnis dieser zwei Versuche steht also vollkommen im Einklange mit der von Lindroth auf morphologischem Wege vorgenommenen Artumgrenzung der *P. Pimpinellae* (Strauss) Mart.

Um festzustellen, ob obige *Puccinia* in der Umgrenzung, wie sie eben Lindroth beschrieben hat, in weitere Arten zerfalle oder nicht, wurden später, im Jahre 1903, weitere Versuche eingeleitet, deren Darstellung nachstehend erfolgen soll.

III. Infektionsversuch mit Teleutosporen von *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart., von *Pimpinella magna* stammend.

Im November 1902 sammelte ich bei Muri (Kanton Bern) auf *Pimpinella magna* Teleutosporen von der *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart.

Am 5. Mai 1903 leitete ich damit einen Versuch mit nachstehenden Pflanzen ein:

III 1.	<i>Pimpinella magna</i>	} im November 1902 bei Zollikofen (Kanton Bern) ausgegraben und eingetopft.
III 2.	" "	
III 3.	" "	
III 4.	" <i>saxifraga</i>	
III 5.	" "	

Die erste Untersuchung der Versuchspflanzen fand am 18. Mai statt. Sie ergab noch kein Resultat. Erst am 22. Mai konnten die ersten Spuren der Infektion an III 1 festgestellt werden. An einer Blattnieder war nämlich eine Pyknide, an einer anderen eine gelblich verfärbte Stelle bemerkbar. Die übrigen Fiedern, sowie die anderen Versuchspflanzen waren noch pilzfrei. Am 26. Mai endlich erwiesen sich sämtliche Versuchspflanzen als infiziert. III 1 trug an 5 Fiedern je eine Pyknide. III 2 zeigte an 2 und III 1 an 1 Fieder je eine Pyknidengruppe, während III 4 und III 5 an einigen Blattstielen und an mehreren Fiedern vereinzelte Pyknidengruppen besaßen. Aecidien konnten schon am 1. Juni an allen Pflanzen bemerkt werden, denen später, im Juni, Uredo- und am 14. August die ersten Teleutosporen folgten.

Unser Versuch bestätigt vor allem die bisherigen Angaben, daß nämlich *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart. eine *Auteupuccinia* ist, das heißt, daß sie auf einer und derselben Nährpflanze Pykniden, Aecidien, Uredo- und Teleutosporen entwickelt. Außerdem zeigt er, daß der Pilz, von *Pimpinella magna* stammend, auch *Pimpinella saxifraga* befällt.

Da das in diesem Versuche erzielte Aecidienmaterial zu einer weiteren Infektion nicht genügt hätte, so wurde mit im Freien gesammelten Aecidiosporen ein neuer Versuch vorgenommen, um zu erfahren, ob die *Puccinia* auf *Pimpinella magna*, abgesehen von *P. saxifraga*, noch andere *Pimpinella*-Arten befällt oder nicht.

IV. Infektionsversuch mit Aecidien von *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart., von *Pimpinella magna* stammend.

Mit Aecidiosporen gefunden am 30. Mai 1903 auf *Pimpinella magna* bei Moutier (Berner Jura) besäte ich am 1. Juni folgende Pflanzen:

IV 1.	<i>Pimpinella magna</i>	} gezogen 1903 aus Samen von Hohenheim.
IV 2.	" "	
IV 3.	" <i>saxifraga</i> v. <i>nigra</i>	} gezogen 1903 a. Samen v. Straßburg.
IV 4.	" "	
IV 5.	" <i>peregrina</i> , Säml.	} gezogen 1903 aus Samen v. München.
IV 6.	" <i>nigra</i> , Säml.	
IV 7.	<i>Chaerophyllum aromaticum</i>	gezogen aus Samen von Paris.
IV 8.	<i>Myrrhis odorata</i>	gezogen 1903 aus Samen von Bonn.
IV 9.	<i>Anthriscus silvestris</i>	im Okt. 1902 bei Bern ausgegraben u. eingetopft.
IV 10.	<i>Pimpinella magna</i>	im Oktober 1902 bei Zollikofen (Kant. Bern) ausgegraben und eingetopft.

(Fortsetzung folgt.)

Beitrag zur Kenntnis des *Gloeosporium* der roten Johannisbeere.

Von Dr. R. Laubert.

Mit 1 Figur.

Jedem erfahrenen Obstzüchter ist bekannt, daß das Laub der Johannisbeersträucher sehr oft mitten im Sommer von einer Krankheit befallen wird, die sich dadurch kennzeichnet, daß die Blätter sich mit vielen braunen Pünktchen und Flecken bedecken, vergilben, stellenweise braun werden und vertrocknen, sich zusammenrollen und abfallen. Die Krankheit tritt epidemisch und nicht selten in so schwerem Grade auf, daß die befallenen Sträucher bereits im Hochsommer, im August oder sogar schon im Juli fast gänzlich entlaubt dastehen. Es ist klar, daß die Sträucher durch eine so frühzeitige Entlaubung eine nachhaltige Schwächung erleiden müssen. Zwecks Bekämpfung der Krankheit hat man bekanntlich unter anderem das Bespritzen mit Bordelaiser Brühe empfohlen. Der bei dieser Krankheit durch das Bespritzen erreichbare Erfolg ist indes sehr fragwürdig.

Als Erreger der Krankheit gilt das „*Gloeosporium ribis*“ (Lib.) Mont. et Desm.

Bei genauerer mikroskopischer Untersuchung des Krankheits-erregers finde ich, daß die in unsere hervorragendsten und maßgebenden mykologischen Sammelwerke¹⁾ aufgenommene Diagnose des *Gloeosporium ribis* nicht so ausführlich ist, wie in Anbetracht der Bedeutung des Pilzes zu wünschen ist. Die Angaben über das Aussehen der Flecke und die Form der Sporen sind ziemlich unzureichend und betrifft eines der wichtigsten Momente bei der Pilzidentifizierung, nämlich der Maße der Sporen, finde ich höchst beträchtliche Unterschiede zwischen den angeführten und den von mir ermittelten Größen. Da aber nicht daran gezweifelt werden kann, daß der von mir untersuchte Pilz als *Gloeosporium ribis* anzusprechen ist, so kann den in den genannten Pilzwerken vorhandenen Angaben über die Sporengröße eine Allgemeingiltigkeit nicht zuerkannt werden.

Um Klarheit zu schaffen und weiteren Zweifeln und Mißverständnissen vorzubeugen, erscheint es mir erwünscht, die Saccardosche Diagnose vorzuschicken und sodann eine genaue Beschreibung des von mir untersuchten Johannisbeerpilzes wiederzugeben, und dabei die von der Saccardoschen Diagnose abweichenden bezüglich dort ganz fehlenden Angaben im Druck besonders hervorzuheben. Die meines Erachtens mangelhafte und daher leicht irreführende Diagnose in Saccardo, *Sylloge fungorum* (Bd. III. p. 706—707) lautet:

Gloeosporium Ribis (Lib.) Mont. et Desm. in Kichx. Fl.

1) Saccardo, *Sylloge Fungorum*, Rabenhorsts Kryptogamenflora. 2. Aufl.

cr. Fl. II. p. 95, Sacc. Mich. II, p. 117. F. ital. A. 1036, *Leptothyrium Ribis* Lib. Exs. n. 258. — Maculis orbicularibus, minutis, confluentibus, brunneis; acervulis epiphyllis, (ob cuticulam atratam) perithecioides, applanatis, rufo-brunneis, intus albidis; gniidiis oblongis, curvulis, 10: 5—6, apice subrostratis, hyalinis.

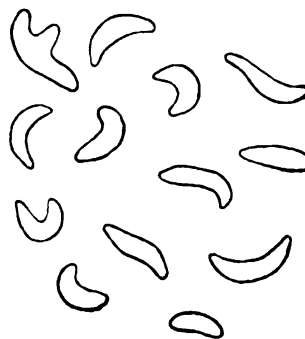
Hab. in foliis *Ribis rubri*, *R. nigri*, *R. acicularis* in Gallia, Germania, Belgio, Italia, Britannia, Austria, Sibiria asiatica, Amer. bor. — In forma *Ribis nigri americana* adsunt conidia 15—20 μ l., hinc crassiora, parce curva v. utrinque aequalia et magis curva et tunc 25 μ longa.

Die Diagnose in Rabenhorsts Kryptogamenflora (2. Aufl. Bd. I., 7. Abt. p. 498—499) ist eine wörtliche Uebersetzung der Saccardoschen.

Die folgende Beschreibung bezieht sich auf eine Untersuchung von frischem Material vom Versuchsfelde in Dahlem bei Berlin.

An den betreffenden Johannisbeersträuchern (Kulturrassen von *Ribes rubrum*) waren Anfang Juli dieses Jahres (1904) die untersten Blätter der Sträucher und speziell der Jahrestriebe mehr oder weniger gelb und zum Teil bereits vertrocknet. Auf der Oberseite dieser Blätter, aber auch auf der noch ganz grünen Blätter, zeigten sich zahllose kaffeebraune, punktförmige Pusteln. Meistens liegt jede dieser Pusteln in der Mitte eines kleinen, rundlichen, nicht scharf abgegrenzten, bräunlichen Fleckes. Oft unterbleibt aber auch eine derartige Fleckenbildung, so daß die Pusteln dann unmittelbar in der grünen Blattsubstanz liegen. An stark erkrankten Blättern sind vielfach größere, unregelmäßige Teile derselben, hauptsächlich am Blattrande, braun und trocken geworden. Die Anzahl der braunen Pusteln auf einem Blatt beträgt oft ein paar hundert. Der Durchmesser der Pusteln mißt 0,15—0,4 mm. Auf Blattquerschnitten erweisen sich die mit der Epidermis in gleicher Höhe liegenden Sporenlager als flache, scheibenförmige, aus senkrecht gestellten, farblosen Sporenträgern zusammengesetzte Hymenien, die dem Palisadenparenchym des Blattes unmittelbar aufsitzen. Die abgeschnürten Konidien sind sehr charakteristisch: farblos, einzellig, sichelförmig-wurstförmig, meist stark (fast halbkreisförmig) gekrümmt, mit körnigem Inhalt, sehr dick, die größte Breite meist nicht in der Mitte liegend.

Die Sporenlänge beträgt 18 bis 30,9, im Mittel 24,5 μ , die Breite 7,2—8,7, im Mittel 7,8 μ . (Ergebnis von je 20 Messungen, Zeiss-Mikroskop, 160 mm Tubuslänge, Meßokular 6, Objektiv 3.) Wenn man die befallenen Blätter in einem feuchten Raum aufbewahrt, bedeckt sich jede Pustel mit einem weißlichen, fast rankenförmigen Schleimtröpfchen.



Konidien von *Gloeosporium Ribis* (Lib.) Mont. et Desm.

6*

Die Hyphen des Pilzes sind farblos, etwa $3\ \mu$ dick und beschränken sich keineswegs auf die braunen Flecke bezüglich die unmittelbare Nachbarschaft der Sporenlager, sondern sie durchziehen auch die gesunden, grünen Teile des Blattes. Es handelt sich hier anscheinend nicht, wie man denken könnte, um eine Miliarinfektion, wobei jeder Blattfleck das Ergebnis einer Einzelinfektion sein würde, sondern das ganze Blatt, eventuell der ganze Sproß, ist infiziert — nebenbei gesagt ein Thema, über das unser Wissen im allgemeinen noch ziemlich unvollkommen ist. Der Ansicht, daß zu den Vertretern der Gattung *Gloeosporium* Ascus-Formen gehören, vermag ich mich — trotz vereinzelter dafür sprechender Angaben in der Literatur (vergl. die ausführliche Arbeit „An epidemic of currant anthracnose“ von F. C. Stewart und H. J. Eustace in New York Agricultural Experiment Station. Bulletin. No. 199. 1901. p. 63—80.) — bis jetzt nicht anzuschließen.

Sorauer¹⁾ (und ebenso Held, Den Obstbau schädigende Pilze, p. 41—42) nennt den Erreger der „*Gloeosporium*-Krankheit“ oder „Dürrfleckenkrankheit“ (Blattbräune, Blattfallkrankheit) der Johannisbeere nicht *Gloeosporium ribis*, sondern *Gloeosporium curvatum* Oudem. Ich glaube dies lediglich auf die vorhandenen ungenauen Diagnosen des *Gloeosporium ribis* zurückführen zu müssen. Meines Wissens ist das echte *Gloeosporium curvatum* Oudem. bisher nur in Holland und zwar nur auf *Ribis nigrum* sicher beobachtet. An allen von mir untersuchten Johannisbeersträuchern (*Ribes rubrum*), die an *Gloeosporium* erkrankt waren, fand ich die *Gloeosporium*-Konidien bedeutend größer, etwa doppelt so groß, als wie sie bei *Gloeosporium curvatum* Oudem. sind.

Meine Untersuchungen blieben indes nicht auf das soeben ausführlich beschriebene *Gloeosporium ribis* aus Dahlem beschränkt, sondern sie wurden auch auf (frisches) Material verschiedenster Provenienz ausgedehnt. Die gewonnenen Ergebnisse stimmen im wesentlichen miteinander überein. Die Länge der Sporen war, wenn auch nicht ganz genau einander gleich, stets bedeutend größer als $10\ \mu$ und überstieg in allen zur Untersuchung gelangten Fällen $20\ \mu$. Eine weitere Bestätigung erhielten meine Ergebnisse durch Untersuchung von Herbar- bez. Exsiccaten-Material. Ich konstatierte z. B. für *Gloeosporium ribis* (Lib.) Mont. et Desm. Krieger, Fungi saxonici No. 1147 $6-9\ \mu$ b., $16\frac{1}{2}-25\frac{1}{2}\ \mu$ l., Allescher und Schnabl, Fungi bavarici No. 97. $6-9\ \mu$ b., $16\frac{1}{2}-24\ \mu$ l., Briosi und Cavara, J. Funghi Parassiti No. 222. $6-7\frac{1}{2}\ \mu$ b., $21-28\frac{1}{2}\ \mu$ l., Herbar Frank $6-9\ \mu$ b., $18-27\ \mu$ l.

Von den beschriebenen, auf *Ribes* gefundenen *Gloeosporium*-Arten (*Gl. tubercularioides* Sacc., *Gl. ribis* (Lib.) Mont. et Desm., *Gl. curvatum* Oudem., *Gl. variabile* Laubert) steht

1) Schutz der Obstbäume gegen Krankheiten. 2. Aufl. 1900. p. 220—222.

wohl das *Gloeosporium variabile* Laubert¹⁾ — namentlich bezüglich der Größe der Sporen — dem *Gloeosporium ribis* am nächsten. Beide Pilze sind aber doch — und zwar sowohl morphologisch wie biologisch — in mehr als einem Punkte deutlich von einander verschieden. Für *Gl. variabile* sind die in verhältnismäßig nur geringer Anzahl (höchstens 20–30) vorhandenen, deutlich in die Augen fallenden, schwärzlichen Blattflecke charakteristisch; bei *Gl. ribis* dagegen ist die Blattoberseite mit unzähligen (oft ein paar hundert), winzigen, braunen, punktförmigen Pusteln oder zahlreichen kleinen, braunen Flecken bedeckt²⁾. Die Sporenlager von *Gl. variabile* sitzen auf der Blattunterseite, die Sporenlager von *Gl. ribis* auf der Blattoberseite. Die Sporen sind bei *Gl. ribis* sehr viel stärker gekrümmt und nicht nur absolut sondern auch relativ wesentlich breiter (7,2–8,7 μ) als bei *Gl. variabile* (5–7 μ breit) (Wenn man Sporen von *Gl. ribis* und von *Gl. variabile* miteinander vermengt, läßt sich die Zugehörigkeit der einzelnen Sporen mittels des Mikroskops ohne die geringste Schwierigkeit auf den ersten Blick erkennen.) Bei *Gl. variabile* mittlere Sporenbreite: mittlere Sporenlänge = 1:4,4; bei *Gl. ribis* mittlere Sporenbreite: mittlere Sporenlänge = 1:3,1; mit anderen Worten: bei *Gl. ribis* sind die Sporen 3mal, bei *Gl. variabile* 4–5mal so lang als breit. Die durch *Gl. ribis* verursachte Schädigung der Sträucher ist im allgemeinen eine sehr viel schlimmere als die durch *Gl. variabile* hervorgerufene. *Gl. variabile* findet sich auf *Ribes alpinum*, *Gl. ribis* hauptsächlich auf *Ribes rubrum* (aber auch auf *Ribes nigrum*, *Ribes acicularis*, *Ribes aureum*, *Ribes grossulariae*).

Die verschiedenen Johannisbeersorten werden verschieden stark von *Gloeosporium ribis* befallen. Ich sah z. B. neben sehr stark befallenen weißbeerigen fast ganz gesunde rotbeerige Sträucher.

Genauere Beobachtungen über den Grad der Widerstandsfähigkeit der einzelnen Sorten sind — abgesehen von der Angabe Sorauers: „Vorzugsweise leiden die rote Kirsch-Johannisbeere und die Versailler Johannisbeere“, also zwei rote Sorten — meines Wissens nirgends publiziert. Spät austreibende Sorten, wie die rote holländische Johannisbeere und Hohenheimer Kirsch-Johannisbeere, sollen nur wenig oder gar nicht befallen werden.

Berlin-Steglitz, den 31. Juli 1904.

1) Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft. Jahrgang 1904. Heft 1.

2) Die auffällige Erscheinung grün bleibender Flecken auf bereits gelb gewordenen Blättern, die man als „mycetogene Konservierung des Chlorophylls“ bezeichnen kann, tritt nur bei Befall durch *Gl. variabile* auf.

Nachdruck verboten.

Ueber die Isolierung der gärungserregenden Enzyme aus dem Pflanzenorganismus.

Von Prof. Dr. **Julius Stoklasa**,

Direktor der chem.-physiol. Versuchsstation der K. K. böhm. technischen Hochschule in Prag.

Unter Mitwirkung von **F. Černý, Joh. Jelínek und Eugen Vítek.**

Die anaërobe Atmung von Pflanzenorganen und ihre Beziehung zur alkoholischen Gärung habe ich im verflossenen Jahre in Hofmeisters „Beiträgen zur chemischen Physiologie und Pathologie“, Bd. III, 1903, Heft 11, behandelt und ferner in den Berichten der Deutschen chemischen Gesellschaft, Jahrg. XXXVI, Heft 3, eine, die Isolierung des die anaërobe Atmung der Zelle der höher organisierten Pflanzen und Tiere bewirkenden Enzyms betreffende Arbeit publiziert. In diesen beiden Arbeiten, sowie in der in Pflügers Archiv¹⁾ erschienenen Abhandlung über die anaërobe Atmung der Tierorgane und über die Isolierung eines gärungserregenden Enzyms aus Tiergeweben, hatten wir Gelegenheit, nachzuweisen, daß die anaërobe Atmung eine alkoholische und Milchsäuregärung ist. Aus der detaillierten chemischen Bilanz der anaëroben Atmung, z. B. von Zuckerrübenwurzeln, Kartoffeln und Erbsensamen, geht hervor, daß die abgespaltene Menge des Kohlendioxyds, des Alkohols und der Milchsäure dem Verluste an Saccharose bei der Zuckerrübenwurzel und der Stärke bei Kartoffeln und Erbsensamen gleichkommt. Das Quantum der gespaltenen Saccharose, welche durch die Einwirkung der Invertase in Invertzucker umgewandelt wurde (d-Glukose und d-Fruktose), weiter das Quantum der zersetzten Stärke, welche durch die Einwirkung der Diastase in Glukose verwandelt wurde, kommt tatsächlich dem Verluste der Trockensubstanz gleich.

Bei allen Versuchen bedienten wir uns besonders konstruierter Apparate und beobachteten alle Kautelen der Asepsis. Ueberdies berücksichtigten wir nur diejenigen Resultate, bei welchen wir mit untrüglicher Sicherheit uns durch Gelatinplattenguß sowie durch Impfung mit der Platinöse in Bouillon überzeugt haben, daß sie unter völligem Ausschluß von Mikroben durchgeführt wurden und daß also die Zuckerrübenwurzel, die Kartoffelknollen oder die Erbsensamen sich in einem vollends bakterien- und hyphomycetenfreien Milieu befanden. Auch hinsichtlich der anaëroben Bakterien haben wir uns nach der Methode Fränkl-Hueppe von ihrer völligen Abwesenheit überzeugt. Daher können wir mit absoluter Bestimmtheit erklären, daß der Prozeß der anaëroben Atmung der Pflanzenzelle eine unter Milchsäurebildung vor sich gehende alkoholische Gärung ist, deren Mechanismus in der Pflanzenzelle von der Art der in ihr vertretenen Kohlehydrate abhängig ist. Aus all den gefundenen Resultaten geht sehr klar hervor, daß der anaërobe Stoffwechsel der Pflanzen im wesentlichen identisch ist mit der alkoholischen Hefegärung.

1) Pflügers Archiv f. d. ges. Physiologie. Bd. CI. 1904.

Wir finden ferner dasselbe quantitative Verhältnis zwischen Kohlendioxyd und Alkohol wie bei der alkoholischen Hefegärung.

Ein wichtiger Fortschritt dürfte die Isolierung eines gärungserregenden, der Buchnerschen Zymase analogen Enzyms aus verschiedenen Pflanzenorganen sein, und zwar nicht bloß nach stattgehabter anaërober Atmung, sondern auch bei normal atmen- den Pflanzen.

Die Alkoholase wurde bis heute in folgenden Pflanzenteilen gefunden:

1) in der Zuckerrübenwurzel, bei normaler und anaërober Atmung;

2) in den Knollen der Kartoffel, bei normaler und anaërober Atmung;

3) in Erbsensamen¹⁾, bei normaler und anaërober Atmung;

4) in Keimlingen von Erbsensamen (*Pisum sativum*), bei normaler und anaërober Atmung;

5) in den Pflänzchen von *Pisum sativum* von 20 Tagen Entwicklung, bei normaler und anaërober Atmung;

6) in den Keimlingen der Gerste, bei normaler und anaërober Atmung.

Die Isolierung des Enzyms erfolgte in nachstehend beschriebener Weise: Das frische Pflanzenmaterial, welches keinerlei Zersetzung durch Fäulnis aufweisen darf, wurde entweder zerrieben oder zerquetscht und der Saft aus der erhaltenen Masse bei einem Drucke von ca. 300 Atmosphären ausgepreßt.

Dem gewonnenen Saft wird Alkohol und Aether zugesetzt, worauf sich ein an Eiweißstoffen reicher Niederschlag ausscheidet. Auf 500 ccm des Saftes verwendeten wir 600—800 ccm eines Gemenges von Alkohol und Aether, und zwar 400—500 ccm Alkohol und 200—300 ccm Aether. Die über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit wird sofort abgehebert und sodann derselbe in dünnem Strahle in einen mit Aether gefüllten hohen Cylinder einfließen gelassen. Der Niederschlag setzt sich nun schnell ab. Sodann wird der Aether abermals rasch abgezogen und der Niederschlag schleunigst mit Hilfe der Pumpe abfiltriert und unverweilt im Vakuumtrockenapparate bei 25—30° C getrocknet.

Die ganze Operation muß rasch durchgeführt werden, denn speziell durch längere Einwirkung des Alkohols und auch des Aethers sinkt das Gärungsvermögen des Enzyms in ungewöhnlichem Maße.

Die fein zerriebene, das gärungserregende Enzym enthaltende Masse wurde mit einer 10—15-proz. Glukose- oder Fruktoselösung vermischt.

Sofort nach der Vermischung des unter einem Drucke von 250—300 Atmosphären aus dem Saft gewonnenen, das gärungserregende Enzym enthaltenden Pulvers mit der Glukose- oder Fruktoselösung trat mehr oder minder starke Gärung ein, welche bei 30° sich als sehr lebhaft erwies.

1) Aus Samen läßt sich das Enzym erst isolieren, wenn dieselben nach vorher erfolgter Sterilisation in sterilisiertem Wasser durch 48 Stunden aufgeweicht worden sind.

Die das gärungserregende Enzym enthaltenden Niederschläge sind von zweierlei Art, je nachdem sie aus dem unter einem Drucke bis 200 oder von 200–300 Atmosphären gewonnenen Preßsaft ausgechieden wurden.

Der Preßsaft der ersten Art liefert wenig aktive Enzyme, und zwar solche, die erst nach 12 Stunden eine alkoholische Gärung hervorrufen; aus dem letzteren und namentlich aus dem unter einem Drucke von 250–300 Atmosphären erzeugten Preßsaft lassen sich Enzyme gewinnen, welche eine rasche und energische alkoholische Gärung in einer Glukoselösung verursachen.

Hierbei ist ein wichtiges Moment zu beachten, nämlich, daß die Enzyme nach 14 Tagen ihr Gärungsvermögen fast vollständig verlieren. Alte Enzyme rufen nach 8–12 Stunden eine Gärung nicht hervor. Das berechtigt zu der Annahme, daß die energische Gärung binnen 8 Stunden nur durch Enzyme und nicht durch Bakterien hervorgerufen wird.

Der pulverförmige Niederschlag wird behufs Studiums der Gärung in eine 10–15-proz. sterilisierte Glukose- oder Fruktose-, Galaktose-, Saccharose-, Maltose-, Laktose- etc. Lösung getan. Die bezüglichen Experimente führten wir in folgender Weise durch: Es wurden zunächst mehrere Kolben mit Lösungen von Glukose, Saccharose etc. arrangiert, welche, ebenso wie der sie verschließende Stöpsel, durch welchen ein Liebig'scher Khler, ein Thermometer und eine bis in die Lösung reichende Röhre gingen, sterilisiert wurden. Mit Hilfe der in die Flüssigkeit reichenden Röhre wurde durch den Kolben keim- und kohlensäurefreie Luft hindurchgetrieben. Der Liebig'sche Khler stand mit zwei gerumigeren U-Rhren in Verbindung, von denen die eine mit Kupfervitriolbimsstein und die zweite mit wasserfreiem CaCl_2 gefllt war, welch letzteres häufig erneuert wurde. Die U-Rhren standen mit Absorptionsapparaten in Verbindung, welche wie folgt zusammengesetzt waren:

- 1) aus einer U-Röhre, die geglhten Natronkalk enthielt;
- 2) aus einem Geissler'schen Apparate, welcher eine Lösung von KOH (2:3) enthielt; und

3) aus einer Röhre, gefllt mit wasserfreiem CaCl_2 . Die Absorptionsapparate waren mit einem Aspirator verbunden, vor welchen eine geräumige Röhre mit wasserfreiem CaCl_2 gelegt war ¹⁾.

Die Kolben wurden in ein Kupferwasserbad getaucht, in welchem mit Hilfe eines empfindlichen Thermoregulators eine Temperatur von 36–37° C ständig erhalten wurde. Die Kolben enthielten 50 ccm einer 10–15-proz. Lösung von Hexosen oder Disacchariden und es gelangten jedesmal 6–10 g des Enzyms zur Anwendung, welch letzteres stets unter allen Kautelen der möglichsten Beschränkung von Mikrobeninvasionen in dieselben eingetragen wurde. Es muß bemerkt werden, daß in der Röhre, durch welche die Luft hindurchgetrieben wurde, eine Schicht Thymol enthalten war, durch welche die durchstreichende, keimfreie Luft passieren mußte. In den Kolben wurden in zahlreichen Fällen Thymol

1) Nähere Angaben über die Anordnung der Apparate finden sich in Pflügers Archiv f. d. ges. Physiologie. Bd. Cl. 1904.

(0,6 Proz.), Toluol (1 Proz.) u. s. w. getan. In jenen Kolben, die mit den sterilisierten Lösungen der Hexosen oder Disacchariden beschickt waren, wurde der Verlauf der Gärung beobachtet, welcher sich durch starke Bildung von Schaum in der Höhe von einigen Zentimetern während einiger Tage kenntlich machte. Die isolierten Enzyme riefen in zahlreichen Fällen augenblickliche Gärung hervor, welche ihren Kulminationspunkt in 6–8 Stunden erreicht hatte. Nach dem Versuche wurde ein solcher Kolben — nennen wir ihn A — geöffnet, und aus demselben mit einer sterilisierten Pipette ca. 5 ccm Lösung herausgenommen, welches Quantum in einen zweiten Kolben — wir nennen ihn B — getan wurde. Im Kolben B befanden sich wiederum jeweilig 50 ccm einer Lösung von einzelnen Hexosen oder Disacchariden und gleichzeitig 6–10 g des gärungserregenden Enzyms. Dieser Kolben samt dem Enzym wurde gründlich sterilisiert und enthielt somit das Enzym in einer bereits nicht aktiven Form. Es muß bemerkt werden, daß auch hier in zahlreichen Fällen 0,4 Proz. Thymol oder 1 Proz. Toluol hinzugefügt wurden. Nach dem Versuche, bei welchem Thymol (0,4 Proz.) oder Toluol (1 Proz.) zur Anwendung gelangten, wurden entweder nur belanglose oder überhaupt gar keine Bakterien gefunden. Diese Desinficientia haben, wie wir uns übrigens mit reinen Mikrobenkulturen überzeugten, in dieser Konzentration die Entwicklung der Bakterien aus den Sporen verhindert und der Chemismus der bereits vorhandenen Mikroben beschränkte sich auf ein Minimum¹⁾. Die Kontrollversuche, in welchen der Verlauf des Prozesses nach der Impfung mit der Lösung aus den Kolben, in welchen die energische Gärung verlief, verfolgt wurde, ergaben das untrügliche Faktum, daß bei allen Versuchen, bei welchen eine Zutat von 0,4 Proz. Thymol oder 1 Proz. Toluol verwendet wurde, die Gärung ausschließlich durch das Enzym hervorgerufen worden ist.

Aus den Kontrollversuchen in dem Kolben B (nach Ueberimpfung aus dem Kolben A), bei welchen nach der Gärung in dem Kolben A untersucht wurde, ob der Inhalt der Kolben bei Zugabe eines Desinficiens bakterienfrei geblieben ist oder nicht, wurden durchschnittlich 10–30 mg CO₂ gewogen und eine Gärung niemals beobachtet. Durch Gelatineplattengu und Impfung von Bouillon wurden Bakterien nur in einigen Fällen nachgewiesen.

Weiter wurden Experimente dahin durchgeführt, ob das hinzugefügte Quantum Thymol im Ausmaße von 0,4–0,5 Proz. unter den Kautelen, unter welchen die Experimente durchgeführt wurden (Sterilisation der Kolben mit der Lösung, Verhinderung der Invasion von Mikroben so weit als möglich bei der Einschüttung des Enzyms in den Kolben, Hindurchtreiben sterilisierter Luft durch die Lösung u. s. w.), den Chemismus der Bakterien in derselben Kohlehydratlösung, bei Gegenwart der gleichen Menge sterilisierten Enzyms ausschließt. Die Versuche wurden mit isolierten Reinkulturen von Bakterien, welche nach der Gärung solcher Lösungen,

1) Es ist notwendig, zu beachten, daß die Flüssigkeit im Kolben nur in ganz dünner Schicht vorhanden sei, damit das Toluol mit den eiweißreichen Enzymen stets in Berührung bleibt; es ist deshalb auch erforderlich, den Kolben fleißig zu schütteln.

bei welchen Thymol oder Toluol nicht zur Anwendung gelangte, gefunden wurden, angestellt. Um zu beobachten, welche Einwirkung das Thymol auf den Chemismus der Bakterien hat, wurden Kolben arrangiert mit 50 ccm einer 10-proz. Lösung von Hexosen und Disacchariden, zu welchen eine starke Bouillonkultur der betreffenden Mikroben zugesetzt wurde. Diese Bouillonkultur betrug 5 ccm. Der Chemismus der Bakterien binnen 36 Stunden wurde beobachtet und es wurde eine Gesamtmenge von 0,025–0,015 g CO_2 gefunden. Neben diesen Versuchen mit Reinkulturen wurde ein Gemisch von den oben erwähnten Bakterien bereitet und mit einer starken Bouillonkultur die verschiedenen Hexosen und Disaccharide geimpft, natürlich wieder unter Hinzugabe von Thymol oder Toluol und es wurde im Laufe von 36 Stunden wieder bloß eine Gesamtmenge von 0,01–0,015 g CO_2 konstatiert, wobei zu bemerken ist, daß abermals keine Gärung stattgefunden hat.

Mit voller Bestimmtheit können wir daher erklären, daß niemals eine von den Bakterien verursachte Gärung wahrgenommen worden ist. Wir konnten dabei ferner feststellen, daß die Bakterien den Kulminationspunkt ihrer Arbeit zu einer Zeit erreicht hatten, in welcher beim Parallelversuche nach 36 Stunden das Enzym die Gärung fast schon beendet hatte.

Nach 60 Stunden war die enzymatische Gärung vollständig beendet, während, wenn sich in demselben sterilen Medium in dasselbe geimpfte Bakterien befanden, erst nach dieser Zeit eine intensive Zersetzung begann, was sich aus dem entwickelten Kohlendioxyd konstatieren ließ. In dem Kolben, in welchem der Gärungsprozeß in Abwesenheit eines Desinficiens vor sich ging, wurden zwar Bakterien konstatiert, allein sie waren weder alle zusammen im Gemenge, noch eine einzelne Bakterienart herausgegriffen, im stande, eine alkoholische Gärung in jener Intensität im sterilisierten, mit dem Enzym in nicht aktiver Form und den Hexosen oder den Disacchariden beschickten Kolben hervorzurufen, wie das Enzym als solches in seiner aktiven Form sie hervorgebracht hat.

Weiter fällt noch ein schlagender Beweis ins Gewicht. Das aus dem Pflanzenorganismus gewonnene Enzym verträgt — natürlich im trockenen Zustande — eine Temperatur von 100°C durch 4–6 Stunden. Das Enzym wird durch diese Temperatur nicht vollständig zerstört und bewirkt in einer Kohlehydratlösung selbst dann noch eine wahrnehmbare Gärung.

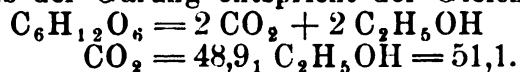
Nach der Gärung wurde der Inhalt des Kolbens untersucht und Bakterien nur in ganz minimalen Quantitäten gefunden. In einigen Fällen haben wir überhaupt gar keine Bakterien nachgewiesen. Es war dies immer dann der Fall, wenn die ganze Operation mit möglichster Sorgfalt ausgeführt worden war, so daß eine Invasion von Mikroben nahezu ausgeschlossen erschien.

Wir haben ferner die Erfahrung gemacht, daß die Gärung augenblicklich auftrat, und zwar in zahlreichen Fällen. Schließlich wurde eine durch das bei 100°C getrocknete Enzym bewirkte alkoholische Gärung nach 8 Stunden konstatiert. Eine sofortige Gärung trat insbesondere immer dann nicht ein (sondern manchmal erst nach Verlauf von 5–8 Stunden), wenn die ganze

Manipulation bei der Enzym-Isolierung längere Zeit in Anspruch nahm oder das Enzym nicht bei hinreichend niedriger Temperatur hergestellt worden ist. Hier ist jedoch zu bemerken, daß aus gefrorenen Pflanzenorganen sich gärungserregende Enzyme überhaupt nicht isolieren lassen. Durch die längere Erfahrung wurde das interessante Faktum festgestellt, daß das Enzym, sobald es in eine Kohlehydratlösung getaucht worden war, in welcher dasselbe nicht ein für die alkoholische Gärung günstiges Milieu vorfand und ein Desinficiens nicht hinzugefügt worden war, in seiner enzymatischen Tätigkeit durch Bakterien eingeschränkt wurde.

Ueberhaupt nimmt man wahr, daß die Bakterienwirkung sorgfältig im Auge zu behalten ist, da, wenn das Enzym nicht in voller Gärkraft vorhanden ist, die Bakterien sich bei Abwesenheit eines Desinficiens nach 36—48 Stunden ungemein vermehren und der chemische Prozeß dann in ganz anderer Richtung verläuft. Die alkoholische Gärung selbst ist in solchen Fällen sehr beschränkt.

Aus der folgenden Tabelle ist der Gärungseffekt von Enzymen verschiedener Provenienz nebst der Menge der das Enzym enthaltenden verwendeten Masse, sowie die Dauer der Gärung ersichtlich. Der Mechanismus der Gärung entspricht der Gleichung:



Auf 100 Teile CO_2 entfallen 104,5 Teile Alkohol.

Aus der Tabelle ist ferner zu ersehen, daß wir in der Mehrzahl der Fälle sehr annähernd dieses Verhältnis zwischen CO_2 und $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ beobachtet haben. (Siehe Tabelle p. 92.)

Ein äußerst interessantes Moment verdient hier ebenfalls erwähnt zu werden. Es war nämlich immer möglich, nach der länger als 12 Stunden andauernden anaëroben Atmung in der Lösung saure Reaktion nachzuweisen. Nach dem Versuche wurde festgestellt, daß die Stärke dieser Azidität der gefundenen Menge von Milchsäure entspricht. Diese Erscheinung trat nicht nur bei den höher organisierten Pflanzen zu Tage, sondern die Entstehung der Milchsäure wurde auch beim Studium der Atmung der Spaltpilze (*Schizomycetes*) in der Lösung der Hexosen und Disacchariden konstatiert. Die Spaltpilze zeichnen sich, wie bekannt, durch eine energische Respirationstätigkeit aus ¹⁾.

Sowohl in der reinen Lösung wie in der Pflanzenmasse wurde

1) Es ist unbegreiflich, daß ein Jahr nach der Publikation meiner zahlreichen ausführlichen Arbeiten über die aërobe und anaërobe Atmung der Pflanzenorgane und die Isolierung der Enzyme, welche die alkoholische Gärung in dem Pflanzenorganismus verursachen, Herr N. A. Maximow in den „Berichten der Deutschen Botanischen Gesellschaft“, Bd. XXII. 1904. Heft 4 eine Arbeit unter dem Titel: „Zur Frage über die Atmung“ veröffentlicht, ohne auch nur mit einem Worte meiner Untersuchungen zu gedenken. Diese Arbeit bekundet nichts anderes, als daß Herr N. A. Maximow die diesbezügliche Literatur nicht kennt, denn sonst hätte er es der Mühe wert finden müssen, meine Arbeiten in Hofmeisters „Beiträgen zur chemischen Physiologie und Pathologie“, ferner in den „Berichten der Deutschen chemischen Gesellschaft“ und endlich im „Centralblatt für die ges. Physiologie. 14. Februar 1903. Heft 23, in seiner Arbeit zu erwähnen. Und dies um so mehr, als den Ausführungen N. A. Maximows nur Tatsachen zu Grunde liegen, welche von mir bereits vor einem Jahre in den genannten Zeitschriften ausführlich behandelt wurden.

92

Digitized by Google

weiter gefunden, daß tatsächlich Hauptprodukte bei der Gärung nur Alkohol und Kohlensäure sind, und daß sich Milchsäure nur nebenbei in einer gewissen Menge bildet. Die Milchsäure wurde zunächst in ein Calciumlaktat übergeführt, welches mit verdünnter Schwefelsäure zersetzt wurde, worauf die Milchsäure durch Aether ausgeschieden worden ist. Aus dem Aetherextrakt wurde die Milchsäure in Bleisalz übergeführt und sodann als Zinklaktat in krystallinischer Form ausgeschieden, worauf die Umkrystallisation in verdünntem Alkohol vorgenommen und die Analyse durchgeführt wurde. Die Milchsäure wurde nicht nur durch die Uffelmannsche Reaktion, sondern auch durch die Konstitution $(C_3H_5O_3)_2Zn + 3\text{aqua}$ sichergestellt. Die Formel $(C_3H_5O_3)_2Zn + 3\text{aqua}$ verlangt 21,99 Zn und wir haben durch zwei Versuche 21,01—21,3 Zn gefunden.

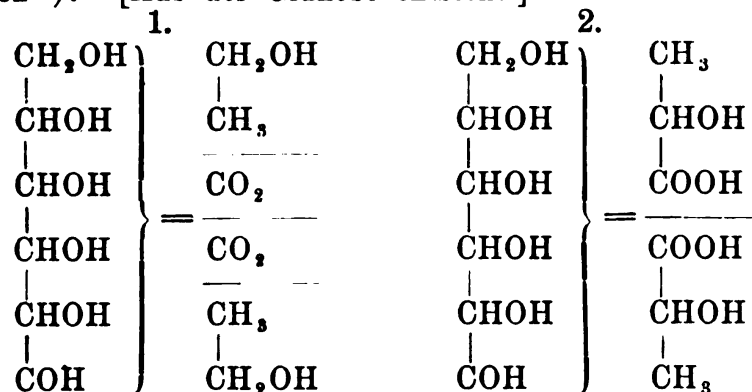
Durch die oben beschriebene Alkohol-Aethermethode ist es uns auch gelungen, nachzuweisen, daß in den Niederschlägen, in welchen die Zymase vorhanden ist, immer auch ein Enzym sich vorfindet, welches die Milchsäurebildung hervorruft. Zur Bestimmung der Milchsäure bedienten wir uns der Methode nach A. Partheil. Eine ausführliche Abhandlung über den Charakter der Enzyme, welche die Milchsäurebildung in der Glukose-, Fruktose-, Galaktose- und in der Saccharose-, Maltose- und Laktose-lösung verursachen, wird in einem der nächsten Artikel erscheinen.

Das der Buchnerschen Hefezymase ähnliche Enzym existiert tatsächlich in der Pflanzenzelle und zwar sowohl bei normaler als auch anaerober Atmung und ist die Bildung desselben als eine Hauptfunktion des Stoffwechsels anzusehen.

Es ist nicht zu bezweifeln, daß dasselbe in der Zelle eine alkoholische Gärung hervorruft, welche als der erste Akt des Atmungsprozesses anzusehen ist.

Die anaerobe Atmung des Pflanzenorganismus müssen wir nach dem Gesagten als einen vitalen Vorgang betrachten, welcher hervorgerufen wird durch ein vom Protoplasma trennbares Enzym. Die Lebensenergie, die bei diesem anaerobiotischen Prozesse verfügbar wird, ist ein Produkt der Hydrolyse der Disacchariden und Polysacchariden und dann der Wanderung des Sauerstoffatoms innerhalb des Moleküls.

So zum Beispiel werden bei der Zuckerrübe nach erfolgter Hydrolyse des Rohrzuckers zu d-Glukose und d-Fruktose diese durch die Wirkung gärungserregender Enzyme in folgender Weise gespalten ¹⁾: [Aus der Glukose entsteht:]



¹⁾ Siehe auch die Arbeit von Hugo Fischer, Ueber Gärungen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. IX, 1902. No. 10. p. 353.)

Wahrscheinlich entsteht aus der Glukose zuerst Milchsäure, aus welcher sich der Alkohol und Kohlendioxyd bilden.

Bei genauerer Erwägung der Lebensvorgänge der Pflanzenzelle erscheint es als wahrscheinlich, daß die aërobe Atmung eine sekundäre Erscheinung ist; der primäre Vorgang ist die intracelluläre Bewegung der Atome im lebenden Molekül, verbunden mit der Umlagerung von Sauerstoff innerhalb des Moleküls. Bei diesem Vorgang, durch welchen die zum Leben nötige kinetische Energie gewonnen wird, spalten sich Kohlendioxyd und Alkohol so ab, daß in dem lebenden Molekül reduzierte Atomgruppen entstehen, welche zum Sauerstoff eine große Affinität haben. Bei Ausschluß von Luft ist bei der anaëroben Atmung keine Möglichkeit gegeben, die im lebenden Protoplasma reduzierte Atomgruppe -- Alkohol -- in seinem molekularen Aufbau durch Aufnahme von Sauerstoff zu fesseln, deshalb wird dieser neben Kohlendioxyd ausgeschieden. Bei hinreichendem Zutritte von Sauerstoff, also bei aërober Atmung, wird das gebildete Alkoholmolekül in statu nascendi derart gebunden, daß es unter der Einwirkung von Sauerstoff durch **Aerooxydase**n zur Bildung neuer Teile des lebenden Protoplasmas benutzt wird, bei welchem Vorgange abermals Kohlendioxyd und Wasserstoff gebildet werden.

Die Umlagerung der Atome in dem Molekül der Glukose nennen wir **Glykolyse** und dieser Prozeß wird durch glykolytische Enzyme hervorgerufen: Erstens durch ein Enzym, Alkoholase und zweitens durch ein Enzym „Laktolase“, welches die Milchsäurebildung verursacht. Ueber die „Acetolase“ und „Formilase“, bei deren Einwirkung auf Alkohol das entstehende Gas aus Kohlensäure und Wasserstoff besteht, werden wir ein nächstes Mal berichten.

Literatur.

- 1) Stoklasa, Julius und Černý, F., Isolierung des die anaërobe Atmung der Zelle der höher organisierten Pflanzen und Tiere bewirkenden Enzyms. (Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft. Jahrg. XXXVI. 1903. Heft 3.)
- 2) Stoklasa, Julius, unter Mitwirkung des Assistenten Černý, Ueber die anaërobe Atmung der Tierorgane und über die Isolierung gärungserregender Enzyme aus dem Tierorganismus. (Centralblatt f. Physiologie. Bd. XVI. Heft 23.)
- 3) Stoklasa, Julius, Jelinek, Joh., und Vitek, Eugen, Der anaërobe Stoffwechsel der höheren Pflanzen und seine Beziehung zur alkoholischen Gärung. (Hofmeisters Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.)
- 4) Stoklasa, Julius, Jelinek, J. und Černý, F., Isolierung eines die Milchsäuregärung im Tierorganismus bewirkenden Enzyms. (Centralblatt f. Physiologie. Bd. XVI. Heft 25.)
- 5) Šimáček, Eugen, Ueber die Isolierung der hydrolytischen Enzyme aus dem Pankreas und sein glykolytisches Gärvermögen. (Centralblatt für Physiologie. Bd. XVII. Heft 8.)
- 6) — Ueber die anaërobe Atmung des Pankreas und Isolierung eines gärungserregenden Enzyms aus demselben. (Centralblatt f. Physiologie. Bd. XVII. Heft 1.)
- 7) Stoklasa, Julius, und Černý, F., Beiträge zur Kenntnis der aus der Zelle höher organisierter Tiere isolierten gärungserregenden Enzyme. Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft. Jahrg. XXXVI. Heft 16.)
- 8) Stoklasa, Julius, Beiträge zur Kenntnis der aus der Zelle höher organi-

sierter Tiere isolierten, gärungserregenden Enzyme. (Centralblatt f. Physiologie. 1903. Heft 17.)

- 9) Stoklasa, Julius, unter Mitwirkung von Černý, F., Jelinek, Joh., Šimáček, Eugen und Vitek, Eugen, Alkoholische Gärung im Tierorganismus und die Isolierung gärungserregender Enzyme aus Tiergeweben. (Archiv f. die ges. Physiologie. Bd. CI. 1904.)
- 10) Dieselben, Ueber die anaërobe Atmung der Tierorgane und über die Isolierung eines gärungserregenden Enzyms aus Tiergeweben. (Zeitschrift f. d. landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich. 1904.)
- 11) Dieselben, Ueber die Isolierung gärungserregender Enzyme aus Kuh- und Frauenmilch. (Archiv f. Hygiene. Bd. L. 1904.)
- 12) Štěpánek, Oldřich, Ueber die aërobe und anaërobe Atmung der Eier. (Centralblatt f. Physiologie. Bd. XVIII. 1904. No. 7.)

Nachdruck verboten.

Essais de culture des Urédinées sur Labiées.

[Faits à l'Institut botanique de Berne.]

Par P. Cruchet.

Communication préliminaire.

1) *Puccinia Menthae* Pers., est indiquée sur une quantité de labiées assez considérable, et dans le but de voir et de délimiter les espèces, ou du moins les formes biologiques probables, formant cette espèce collective, j'ai fait un certain nombre d'essais qui m'ont donné les résultats suivants:

a) Des téléospores, provenant de *Mentha silvestris* puis des aecidiospores et des urédospores semées sur différentes Menthes ont infecté avec succès, sauf dans un cas, toutes les *Mentha silvestris*. *Mentha aquatica* et *arvensis* sont restées parfaitement indemnes.

b) Des urédospores provenant de *Mentha arvensis* ont infecté avec plein succès *Mentha arvensis* à l'exclusion des *M. silvestris* et *aquatica*.

c) Des urédospores provenant de *Mentha aquatica* n'ont donné de résultat positif que sur les *M. aquatica*.

D'autres labiées infectées par les mêmes matériaux n'ont donné aucun résultat. Celles-ci étaient: *Origanum vulgare*, *Clinopodium vulgare*, *Calamintha officinalis*, *Melittis melissophyllum*, *Melissa officinalis*, *Monarda fistulosa*, *Nepeta Cataria*, *Lycopus europaeus*, *Ballota nigra*.

Diverses Menthes et d'autres labiées provenant de semis de plusieurs jardins botaniques ont aussi été infectées mais les résultats obtenus ne pourront être indiqués que quand la dénomination de ces semis aura été vérifiée. Il est toutefois certain que quelques unes de ces plantes ont été infectées par 2 des formes précitées, et ce ne sont que les essais ultérieurs et ceux en cours qui permettront d'élucider plus complètement cette question.

2) *Aecidium Brunellae* Winter. Il y a un certain nombre d'années cet *Aecidium* fut trouvé par M. le prof. Ed. Fischer non loin de Berne; et dans l'intention de faire des recherches au

sujet de cet *Aecidium*, nous nous rendîmes à cet endroit le 21 mai 1904. Un examen attentif des feuilles sèches de l'année précédente dans le voisinage des *Brunella* montra à M. Fischer de rares amas de téléutospores. Ces feuilles appartenaient à une graminée dont les jeunes pousses ne permettaient pas une détermination, et ce n'est que plus tard qu'elle fut reconnue comme étant une *Molinia coeureulea*. Une graminée identique, mais provenant d'un endroit où il n'y avait aucune *Brunella* malade, fut infectée avec des spores aecidiennes, et 20 jours plus tard chacun des essais donnait de petites taches d'urédos qui depuis ont grandi et fait place à des amas de téléutospores. Dans le voisinage de l'*Aecidium Brunellae* se trouvait aussi le *Calamagrostis montana* avec 2 sortes de téléutospores: *Puccinia graminis* et *coronata*. Des plantes saines de ce *Calamagrostis* ont aussi été mises en expérience, mais sans résultat.

De ces expériences il résulte donc que l'*Aecidium Brunellae* Wint. correspond à une *Puccinia* sur *Molinia coeureulea* Mönch. L'étude microscopique montre qu'il s'agit d'une Puccinie du type *Moniliae*, et je la nommerais: *Puccinia Brunellarum-Moliniae*.

3) *Puccinia Stachydis* DC. sur *Stachys recta*. Le mycélium produit par les basidiospores forme des pycnides peu apparentes petites et en très petit nombre. Les urédos sont formés par le même mycélium et aux mêmes endroits. Pas d'aecidies. La *Puccinia Stachydis* rentre donc dans le groupe des *Brachypuccinia*.

Berne, juillet 1904.

Inhalt.

Originalmitteilungen.

- Cruchet, P.**, Essais de culture des Urédinées sur Labiées, p. 95.
- Düggeli, Max**, Die Bakterienflora gesunder Samen und daraus gezogener Keimpflänzchen. (Forts.), p. 56.
- De Waele, H., Sugg, E. et Vandevelde, A. J. J.**, Sur l'obtention de lait cru stérile, p. 30.
- Harrison, F. C.**, A bacterial disease of cauliflower (*Brassica oleracea*) and allied plants, p. 46.
- Jordi, E.**, Weitere Untersuchungen über *Uromyces Pisi* (Pers.), p. 64.
- Kuntze, W.**, Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien, p. 1.
- Laubert, E.**, Beitrag zur Kenntnis des *Gloeosporium* der roten Johannisbeere, p. 82.
- Lepeschkin, W. W.**, Zur Kenntnis der Erbllichkeit bei den einzelligen Organismen. — Die Verzweigung und Mycelbildung bei einer Bakterie (*Bacillus Berestnewi* n. sp.). (Schluß), p. 13.
- Leschtsch, Marie**, Gärung und Atmung verschiedener Hefearten in Rollkulturen. (Schluß), p. 22.
- Metcalf, Haven**, *Bacterium teutlium* sp. nov., p. 28.
- Semadeni, Franc. Ottavio**, Beiträge zur Kenntnis der Umbelliferen bewohnenden Puccinien, p. 73.
- Stoklasa, Julius**, Ueber die Isolierung der gärungserregenden Enzyme aus dem Pflanzenorganismus, p. 86.
- Störmer, K.**, Ueber die Wasserröste des Flachses, p. 35.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof.
Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr.
Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3^l.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XIII. Band.

Jena, den 26. September 1904.

No. 4.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

**Originalreferate aus bakteriologischen u. gärungsphysiologi-
schen etc. Instituten, Laboratorien etc.**

Nachdruck verboten.

Aus dem Institut für Gärungsgewerbe, Berlin.

Henneberg, W., Studien über das Verhalten einiger
Kulturheferassen bei verschiedenen Temperaturen.
Ein Beitrag zur Enzymtätigkeit, zur Lebensdauer,
Haltbarkeit und zum Absterben der Hefen. (Zeitschr.
f. Spiritusind. Jhg. XXVII. 1904. No. 10—21.)

Die Untersuchungen wurden an den im Institut für Gärungs-
gewerbe im großen nach dem Lüftungsverfahren ge-
züchteten Brennereihefen: Rasse II und XII, an ober-
gäriger Bierhefe, an einer untergärigen Betriebshefe
(Dortmunder Abstammung) aus der Versuchsbrauerei und

Zweite Abt. Bd. XIII.

7

an den untergärigen Bierhefen Saaz und Froberg, die im Laboratorium herangezüchtet wurden, angestellt.

Die Wirkung der Peptase im Zellinnern und außerhalb der Zelle nach dem Tode der Hefezelle wurde unter den verschiedensten Bedingungen untersucht. Es kann dies bekanntlich mikroskopisch und makroskopisch geschehen. In letzterem Falle mischt man die Hefe in Chloroformwassergelatine oder bringt die zu untersuchende abgetötete Hefemasse in Form kleiner Tröpfchen auf die erstarrte Gelatine. Ist Peptase anwesend, so wird die Gelatine flüssig. Mikroskopisch läßt sich die Peptasewirkung an dem Verschwinden des Zellprotoplasmas verfolgen. Die Hefezelle erscheint in vielen Fällen durch Kontraktion des Eiweißes zunächst doppelt umrandet. Dieses bewahrt, durch die Hautschicht begrenzt, die ursprüngliche Zellform und wird durch Auflösung heller und kleiner. Niemals wird die Zelle, wenn ihre Membran geschlossen bleibt, völlig leer, bleiben doch stets ein oder mehrere kleine lichtbrechende, fetthaltige Körper, Fetttröpfchen, und die besonders nach Färbung sichtbar werdende zarte Hautschicht des Plasmas vorhanden. Diese oft sehr gleichmäßig geformten, gleichgroßen Plasmareste können einen Zellkern vortäuschen. Ein Kern ist bisher niemals mit Sicherheit festzustellen gewesen. Es mag bemerkt sein, daß außerdem öfters auch Glykogen noch in den völlig verdauten Zellen nachzuweisen ist. Die Zersetzungsprodukte des Eiweißes kristallisieren nicht selten im Innern der fast leeren Zelle, es bilden sich lange Nadeln oder Kristalldrüsen.

Außer auf Peptase wurden die genannten Hefen auch auf Katalase unter den verschiedenen Bedingungen untersucht. An der Zersetzung von Wasserstoffsuperoxyd läßt sich das Vorhandensein dieses Körpers erkennen. Mit einem der übrigen Enzyme der Hefe ist die Katalase (von Loew so genannt), wie auch aus den unten zu nennenden Versuchen hervorgeht, nicht identisch.

Versuche mit abgepreßten Hefemengen.

Je nach der Temperatur und der Heferasse werden die Hefen früher oder später flüssig. Bei Wärmegraden über 41° werden die Hefen innerhalb eines Tages flüssig. Bei $38-39^{\circ}$ ist dies ebenso der Fall bei den untergärigen und obergärigen Bierhefen, während die Brennereihefen. Rasse II und XII, hier erst am 3.-4. Tage flüssig werden. Bei $27-36^{\circ}$ ist die untergärige am 6. Tage, die obergärige Bierhefe öfters bereits am 3.-4. Tage, dagegen Rasse II und XII erst am 9. Tage flüssig. Die Verflüssigung tritt schneller ein, wenn Luft reichlichen Zutritt hat.

Das Verflüssigen der Hefe, d. h. das Austreten des Zellsaftes („Vakuole“) aus der Zelle, fällt mit dem Absterben derselben zusammen. So sind über 41° die Hefezellen nach 1 Tag, bei $38-39^{\circ}$ nach 2 Tagen abgestorben. Rasse II war z. B. bei $32-34^{\circ}$ am 13., bei $30-31^{\circ}$ am 17. und bei $24-26^{\circ}$ am 20. Tage vollständig tot. Die untergärige Hefe war bei $34-36^{\circ}$ am 6. Tage und bei $30-34^{\circ}$ am 13. Tage abgestorben, während bei 7° am 35. Tage noch 10 Proz. lebten.

Die Peptase wirkte unter diesen Bedingungen bei der obergärigen Bierhefe am schnellsten (bei 50–52° in 1 Tage, bei 38–43° in 2 Tagen völlig verdaut); es folgt dann Rasse II (bei 41–52° in 3, bei 38–39° in 4 Tagen völlig verdaut), während Rasse XII bei 41–43° und die untergärige Bierhefe bei 38–52° erst in 4 Tagen völlig verdaut war. Erst nach 14 Tagen war die Selbstverdauung bei 31–36° fast vollständig, dagegen war sie bei 27–30° auch nach dieser Zeit nur mäßig.

Auffallend ist die Widerstandsfähigkeit der Zellmembranen, welche nur bei der untergärigen Hefe an dem einen Pole sich öfters öffnet. Bei Anwesenheit von bestimmten Bakterienarten und *Penicillium* wird die Zellhaut aufgelöst.

Die Katalase ist bei 50–52° meistens nach 1 Tage und bei 41–43° nach 2 Tagen unwirksam, nur bei der untergärigen Hefe ist sie länger, z. B. bei 50–52° noch nach 4 Tagen wirksam. In der verflüssigten Zelle bleibt noch lange Zeit (noch nach 50 Tagen bei 50°), und zwar von den Enzymen am längsten das Invertin wirksam.

Bemerkenswert ist, daß das Glykogen bei 50–52° überhaupt nicht, bei 38–43° öfters schon nach 1 Tag aus den Zellen verschwindet. Die obergärige Bierhefe behielt auch bei 33–43°, wohl infolge der schnell zerstörend wirkenden (auf die Diastase) Peptase ihren reichlichen Glykogengehalt.

Wenn auch die Hefen so rein wie möglich in der Hefezuchtanstalt und in der Versuchsbrauerei gezüchtet und behandelt wurden, so enthielten sie doch stets nach dem Einpressen in die Büchsen verschiedene Infektionskeime (*Penicillium*, *Oidium*, Kahmhefe und verschiedene Bakterienarten). Die Frage, wie sich letztere in den bei den verschiedenen Temperaturen stehenden Hefemengen verhielten, wurde eingehender untersucht. Bei 38–52° fand sich niemals Fäulnisgeruch vor. An Organismen konnten *Bac. Delbrücki* und *Bac. Listeri*, *Pediococcus acidilactici* häufig festgestellt werden. In allen bei geringeren Wärmegraden lagernden Hefen stellte sich früher oder später Fäulnis ein (bei 31–36° vom 9.–16. Tage an, bei 27–30° vom 13. Tage, bei 23–27° vom 16.–20. Tage und bei 7–9° C vom 35. Tage an). Es herrschten *Oidium*, *Penicillium*, *Anomalous*, *Mycoderma*, Essigbakterien und besonders Milchsäurebacillenarten vor. Die Ursache, weshalb bei höheren Temperaturen keine Fäulnis eintritt, kann einmal in den wirksamen Hefeenzymen liegen oder auch in dem vorherrschenden Milchsäurebacillus, *Bac. Delbrücki*, der andere Arten nicht aufkommen läßt. Bestimmte Milchsäurebacillenarten finden sich stets in den lagernden Hefen, vermehren sich hier sehr stark und scheinen bei der Hefefäulnis beteiligt zu sein.

Die Versuche, welche nachweisen sollten, ob die bei höheren Temperaturen verflüssigte Hefe von lähmendem Einfluß auf die Entwicklung von Fäulnisbakterien u. s. w. ist, ergaben, daß die letztere durch die Hefeenzyme verhindert wird.

Kulturhefe, der Kulturmilchsäurebacillus (Bac. Delbrücki) und einige andere Organismen entwickeln sich aber auch unter diesen Bedingungen (Anwesenheit wirksamer Enzyme) sehr üppig.

Mischt man faule Hefe in frische Hefe ein, so tritt viel schneller Fäulnis ein als in Hefe ohne Beimengung. Die Haltbarkeit der abgepreßten Hefen ist also, was von vornherein anzunehmen ist, auch von dem Bakteriengehalt abhängig.

Unter Flüssigkeit lagernde Hefen.

Dieselben Hefen wie in den Büchsenversuchen kamen in einer zehnfachen Verdünnung in Wasser ohne und mit Chloroformwasserzusatz, teilweise auch in Würze für die Versuche zur Anwendung.

Die Lebensdauer in Wasser bei höheren Temperaturen ist etwas länger als in den in Büchsen zusammen gelagerten Hefen. Chloroformwasser tötet ziemlich schnell ab. Hervorzuheben ist, daß die Peptase in den Chloroformwasserversuchen lange Zeit wirksam bleibt, z. B. bei der obergärigen und untergärigen Bierhefe bei 7–31° länger als $\frac{1}{4}$ Jahr, bei 36–42° 11 Tage und länger u. s. w.

Die Katalase verschwindet zuerst bei Rasse II, dann bei Rasse XII, während sie bei der untergärigen Hefe bei weitem am längsten wirksam bleibt. Bei letzterer ist auch das Invertin sehr lange vorhanden, sogar länger als das Peptaseenzym.

Das Glykogen bleibt bei hoher Temperatur (über 50°) dauernd erhalten. Bei der untergärigen Hefe, niemals bei den Brennerhefen, öffnet sich häufig an der früheren Sproßansatzstelle die Zellhaut.

Bei einem Vergleich der Peptasewirkung von Rasse II und Dortmunder Hefe, in abgepreßtem Zustand, und unter Wasser mit und ohne Chloroformzusatz fand sich bei Rasse II viel mehr Peptase als bei der Bierhefe. Es ergab sich bei Rasse II kein Unterschied in der Selbstverdauung zwischen der Hefe in abgepreßter Form und der unter Wasser befindlichen. Bei der untergärigen Hefe ist etwas Wasserzusatz der Peptasewirkung entschieden günstiger. Ein Zusatz von vielem Wasser lähmt die Selbstverdauung in allen Fällen. Ebenso lähmt Chloroformzusatz.

Die Frage, wie lange in breiartigem Zustand absolute Reinkulturen bei verschiedenen Temperaturen zu leben vermögen, wurde in einigen Versuchsreihen zu beantworten versucht. Die Versuche wurden, was niedrige Temperaturen betrifft, in einer besonderen Abhandlung (siehe späteres Referat) vervollständigt. Hier sei nur erwähnt, daß Hefe Froberg bei 33° am 4. Tage, bei 31° am 12. Tage, bei 25° am 19. Tage völlig, bei 20° am 29. Tage fast gänzlich abgestorben war, während bei 6 und 11° die Zellen viel länger leben.

Das Flockenbilden, d. h. das Zusammenkleben der Zellen in Folge der Klebrigkeit der Häute, findet sich bekanntlich stets bei den untergärigen Hefen und nur unter bestimmten Bedingungen auch bei den obergärigen (wie bei Rasse II und XII). Solche sind z. B. Weiterzucht ohne längere Ruhepause und Kultur in Würze mit nur geringem Säuregrad. Die Klebrigkeit verliert sich, wenn

die Hefe bei kalter Temperatur längere Zeit lagert, ebenso durch Peptasewirkung bei höherer Temperatur und ferner ebenso bei stärkerem Erhitzen.

Versuche in hängenden Wasser- und Würzetröpfchen.

Die Lebensdauer der Zellen unter diesen Bedingungen ist ebenfalls je nach der Temperatur und der Heferasse verschieden. Am wenigsten widerstandsfähig ist die untergärige Hefe, nur wenig mehr die obergärige Bierhefe, am meisten widerstandsfähig dagegen zeigt sich Rasse XII. Oefers überleben einige die Hauptmenge und sprossen auf Kosten der toten Zellen noch nach längerer Zeit sehr üppig.

Die Hefezellen speichern unter diesen Bedingungen in großer Menge Fett auf, das nach dem Absterben in der Zelle vorhanden bleibt.

Die Selbstverdauung gibt sich öfter durch zunehmende Aufhellung des Plasmas zuerst zu erkennen, die Körnchen behalten die Lagerung wie in der lebenden Zelle. Die Peptasewirkung ist viel langsamer und meist weniger stark als in den in Massen aufeinander gelagerten Zellen (in Büchsen).

Versuche mit Agarkulturen.

Die Lebensdauer ist wie in hängenden Tröpfchen bei höheren Temperaturen (37–43°) etwas länger als in Büchsenhefen. Die Peptasewirkung ist ebenfalls sehr ähnlich wie in hängenden Tröpfchen. Auch hier ist die Fettansammlung in den Zellen, mit Ausnahme langgestreckter Zellen, bemerkenswert. Das Fett fließt nach dem Tode zu 1–2 großen Tropfen zusammen, die größere Abmessungen als Sporen besitzen können.

Versuche mit gleichmäßig hergezuchteten Hefen.

Es ergab sich ein verschiedener Peptase- und Katalasegehalt bei den verschiedenen Rassen. Die untergärige Hefe hat am wenigsten Peptase, wahrscheinlich infolgedessen am längsten Katalase. Das Absterben der Hefe, nicht die Peptasewirkung (Chloroformgelatine) wird durch Anwesenheit von Würzegelatine verzögert.

Von den übrigen Versuchen mag folgendes hier erwähnt sein:

Der Katalasegehalt ist bei den verschiedenen untergärigen Heferassen verschieden. In Hefen, die bei Zimmertemperatur langsam spontan in der vergorenen Würze abgestorben sind, läßt sich keine oder nur geringe Selbstverdauung feststellen. Bringt man den von der Flüssigkeit getrennten alten Bodensatz auf warme Temperatur (42–52°), so findet sich ebenfalls nur in wenigen Zellen eine Peptasewirkung. Auch wenn die untergärigen Hefen bei höheren Wärmegraden (34°) gären, erblickt man nach 30 Tagen nur einen kleinen Teil durch Selbstverdauung leer oder fast leer gewordener Zellen. Um die Zellen der Peptasewirkung auszusetzen, ist es nötig, die lebenskräftige Hefe gleich nach der Gärung von der Flüssigkeit zu trennen und auf 43–55° zu bringen.

Die untergärige Hefe in der Versuchsbrauerei zeigte in den abgestorbenen Zellen nach der Gärung (11. Tag) und

nach dem Lagern im Lagerfaß (30. Tag) keine Peptasewirkung. Die große Menge Flüssigkeit und die geringe Temperatur dürfte dies bedingen. Bemerkenswert ist, daß die Hefezellen aus dem Lagerfaß sehr fettreich waren. Die Klebrigkeit der Zellhäute schwindet bei 49° in 1 und bei 38 nach 2 Tagen, wenn man die Hefe in breiartigem Zustande lagern läßt.

Gekochte Hefe ist der Peptasewirkung nicht oder sehr schwer zugänglich. Auch spontan abgestorbene Zellen mit koaguliertem Eiweiß behalten ihren Zellinhalt in der verflüssigten peptasereichen Hefemenge.

Durch Chloroformdämpfe abgetötete Hefe (Rasse II) wurde Wärmegraden von 6–53° C ausgesetzt. Am schnellsten tritt die Selbstverdauung bei 43–53° ein, von 25° an abwärts ist sie verlangsamt, und bei 6–13° läßt sie sich erst vom 3 Tage an mikroskopisch nachweisen.

Die einzelnen Zellen haben verschiedenen Peptasegehalt, da sie sehr verschieden schnell ihren Inhalt auflösen.

Bei 2½ Jahr alter trockener Hefe (Rasse II), die noch 5 Promille lebende Zellen enthielt, war die Peptasewirksamkeit nicht geschwächt worden.

Eine schnelle und weitgehende Selbstverdauung der Zellen ist durchaus nicht stets mit einer frühzeitigen Gelatineverflüssigung durch die lebenden Zellen verbunden. Rasse XII zeigt z. B. bei der Selbstverdauung einen größeren Peptasegehalt als die untergärigen Bierhefen, doch verflüssigen sich die Gelatinekulturen letzterer früher als die von Rasse XII. Ebenso verflüssigt Saaz früher als Froberg die Gelatine.

Katalase wurde bei allen bisher geprüften Hefearten (roten Hefen, Kahlhefen, Fruchtätherhefen, Torula, Milchsüßhefen, wilden Hefen, Weinhefen, Kulturhefen) nachgewiesen. Da mit dem Absterben der Kulturen auf Agar die Wasserstoffsüberoxydzersetzung erlischt, so läßt sich auch an kleinen Proben aus einer Kultur die Lebensfähigkeit derselben auf diese Weise leicht feststellen.

Glykogenlösendes Enzym.

Häufig haben mit sehr viel Glykogen angefüllte Zellen, die nicht auszusplassen vermögen, ihr Eiweiß als festeren Wandbelag und nur in geringer Menge. Es scheint wahrscheinlich, daß solche auffallend großen Glykogenaufspeicherungen ebenso wie die ungewöhnlich großen Fettansammlungen Krankheitserscheinungen der Zellen darstellen.

Bringt man mit Wasser verrührte glykogenhaltige Hefe in verschiedene Wärmegrade, so tritt je nach der Temperatur eine verschieden schnelle Vergärung des Glykogens ein. Bei 49–54° sind die Zellen in ca. 2 Stunden glykogenfrei, doch sterben die Zellen teilweise vorher und behalten dann ihr Glykogen. Wird die Hefe auf 60° kurze Zeit erhitzt, so kann sie das Glykogen nicht mehr vergären, auf 55° erhitzt, nur noch sehr wenig, dagegen verschwindet es bei auf 50° erwärmter in 2 Stunden völlig. Eine durch hohe Temperatur abgeschwächte Hefezelle (s. u.) vermag also das Glykogen nicht mehr zu zersetzen.

Durch Chloroform abgetötete Hefe, die einer Temperatur von 44° ausgesetzt wurde, vergärt noch ihr Glykogen, dagegen nicht mehr, wenn sie auf 46° erhitzt wurde. Bemerkenswert ist, daß die Glykogenvergärung bei $37-42^{\circ}$ äußerst stürmisch (in 1—2 Stunden) und auch bei 7° noch schnell (in 24 Stunden) in der Chloroformhefe verläuft. Die Anwesenheit von Rohrzucker verhindert die Vergärung. Die Diastasewirkung erstreckt sich nicht außerhalb der Zelle. Chloroformwasser lähmt sehr beträchtlich die Glykogenvergärung.

Die Tatsache, daß die durch Chloroformdampf abgetötete Hefezelle bis 45° , dagegen die lebende Zelle bis 55° ihr Glykogen vergären kann, könnte durch den Schutz des lebenden Eiweißes, oder durch die Lähmung des Enzyms durch das Chloroform oder auch schließlich dadurch erklärt werden, daß in der lebenden Zelle der die Diastasewirkung lähmende Zucker schnell weitervergoren wird.

Fett.

Fett findet sich dann in großer Menge in den Zellen ein, wenn sie an der Luft wachsen oder lagern, also in Agar-, Gelatine- und hängenden Tröpfchenkulturen, sowie bei Haut und Ringbildungen. Es bilden sich zuerst (etwa 50) kleine, sehr gleichmäßig große Fettkugeln in der Zelle, die später zu einigen wenigen (etwa 10) entsprechend größeren, schließlich zu 1 bis 2 sehr großen, fast die ganze Zelle ausfüllenden Fetttropfen zusammenfließen. Das Zusammenfließen der einzelnen Fetttropfen ist stets ein Zeichen, daß die Zelle abgestorben ist.

Abtötung durch Erhitzung.

Wenn die Hefezellen bis auf 50° erhitzt und darauf in günstige Temperatur gebracht werden, so sprossen die Zellen noch aus. Bei den auf $52-58^{\circ}$ erhitzten ist dies nicht mehr der Fall, obwohl die Zellen wie lebende aussehen und sich auch nicht mit dünner Anilinfarbe färben (matte Zellen). Bei $56-60^{\circ}$ sterben die Hefezellen zum größten Teil, die Vakuole verschwindet, d. h. der Zellsaft tritt aus der Zelle (die Hefemasse wird dadurch flüssig), die Zelle wird kleiner, besonders schmaler, das Plasma wird stärker lichtbrechend und nimmt gelöste Farbstoffe sehr leicht auf. Glykogen und Zucker wird jetzt nicht mehr vergoren. Sämtliche Zellen färben sich bei $62-70^{\circ}$ nach Farblösungszusatz. Bei $64-75^{\circ}$ erlischt die Wirksamkeit der Katalase und der Peptase, während erst bei $70-80^{\circ}$ die Invertasetätigkeit zur Ruhe kommt. Sehr wichtig ist, daß die verschiedenen Kulturheferassen durch diese Abtötungstemperaturen sich unterscheiden. Als Beispiele mögen genannt sein: Hefe Saaz sproßt nicht mehr bei $50-52^{\circ}$, Froberg bei $54-56^{\circ}$ und Rasse XII bei 58° . Sämtliche Zellen färben sich nach Farbstoffzusatz bei Saaz bei $58-60^{\circ}$, bei Froberg bei 64° , bei Rasse XII bei 68° und bei Rasse II bei $68-70^{\circ}$. Die Katalase wird unwirksam bei der untergärigen Hefe bei $70-75^{\circ}$, bei der obergärigen Bierhefe ebenso bei Rasse II und XII schon bei 64° .

Die Peptasetätigkeit erlischt bei der untergärigen Hefe bei $70-75^{\circ}$, bei der obergärigen Bierhefe bei 64 und

Referate.

Koch, Alfred, Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen. Unter Mitwirkung von Fachgenossen herausgegeben. Jahrg. XII. 535 pp. Leipzig (S. Hirzel) 1904.

Die Fertigstellung des 12. Jahrganges des Kochschen Jahresberichtes dürfte wohl von jedem Fachmann mit Freuden begrüßt werden, da er bei der Fülle des Materials und der Zerstreuung desselben in einer Anzahl von einzelnen Fachblättern eine leichte und schnelle Orientierung in den einzelnen, die Lehre von den Gärungsorganismen betreffenden Fragen gestattet. Aus demselben Grunde dürfte er für technische Beamte, überhaupt für diejenigen, welche die einschlägige Fachliteratur nicht regelmäßig verfolgen und studieren können, ein wertvolles Nachschlagebuch bleiben. Trotz der großen Anzahl einzelner Referate (932), ist die Einteilung eine sehr übersichtliche, die Abhandlungen selbst sind meist kurz und treffend wiedergegeben. Die Einteilung ist dieselbe geblieben, wie in den früheren Jahrgängen.

Schander (Geisenheim).

Kossowicz, Alex., Beobachtungen über die Farbstoffbildung einiger Bakterien in gezuckerten Mineralsalz-Nährlösungen. (Zeitschr. f. d. landwirtschaftl. Versuchswesen in Oesterreich. 1904. p. 404.)

Gelegentlich von später zu publizierenden Versuchen über das Verhalten der Bakterien zur Raffinose hat Verf. auch einige neue Beobachtungen über die Farbstoffbildung der Bakterien in gezuckerten Mineralsalz-Nährlösungen gemacht. *Bacterium prodigiosum* zeigte in der Nährlösung (3 Proz. Raffinose oder Saccharose, 0,25 Proz. KH_2PO_4 , 0,005 Proz. $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 0,25 Proz. MgSO_4 , 0,25 Proz. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, 0,2 Proz. NH_4Cl) die Bildung eines zitronengelben Farbstoffes, welcher in die Lösung übergang. Die Gelbfärbung tritt gewöhnlich nach 2—3 Wochen und noch später ein. Ueberimpfung auf Kartoffeln oder Fleischbouillonagar ergab rotgefärbte Kolonien. Rote Farbstoffe wurden von *Bacterium lactorubefaciens* und *Micrococcus agilis* gebildet. Auch *Bacterium synxanthum* ist zur Bildung eines rötlich-braunen Farbstoffes, dessen Auftreten und Intensität durch den Gehalt der Nährlösung an MgSO_4 beeinflusst wird, befähigt. Nachdem Verf. schon früher den Nachweis geliefert hat, daß auch die künstliche Farbstoffbildung der Hefen von dem Gehalt der Nährlösung an MgSO_4 abhängig ist, so ist damit eine interessante Analogie zwischen der Farbstoffbildung bei gewissen Bakterienarten und Saccharomyceten gegeben. Das Verhalten von *Bac. fluorescens liquefaciens* und *Bac. fluorescens putidus* in der erwähnten Raffinoselösung könnte neben dem verschiedenen Verhalten der beiden Bakterienarten zur Gelatine als weiteres diagnostisches Unterscheidungsmerkmal dienen. Während erstere Bakterie auch in dieser Lösung den charakteristischen gelben, fluoreszierenden

Farbstoff aufweist (aber erst nach 3—4 Wochen), erscheint die Zucht der anderen Bakterie mit einem weißen Depot. Hingegen sind *Bac. fluorescens aureus* und *Sarcina liquefaciens* auch in diesem Nährboden zur Bildung eines gelben Farbstoffes befähigt. *Bac. cyaneofuscus* bildet nur einen graubraunen Farbstoff, *Bac. mesentericus fuscus* zeigt nach 2—4 Wochen ein lichtbraunes Depot, *Bac. butyricus* Hueppe färbt sich nach 3—4 Wochen schwach gelblich und entwickelt Buttersäure. Auch *Bact. coli commune* bildet nach 6—8 Wochen einen deutlich gelben Farbstoff. Rein weiße Zuchten lieferten bei einer Versuchsdauer von ca. 4 Monaten: *Spirillum Finkler-Prior*, *Streptococcus pyogenes*, *Micrococcus flavescens*, *Tyrophthrix distorta*, *Bac. Freudenreichii*, *Bact. aërogenes*, *Bact. lactis aërogenes* und das Bakterium des Stallgeruches, welche 3 letzteren Bakterienarten ebenso wie *Bact. synxanthum* Raffinose kräftig vergären. Stift (Wien).

Beythlen, Hempel und Kraft, Beiträge zur Kenntnis des Vorkommens von *Crenothrix polyspora* in Brunnenwässern. (Zeitschrift für Untersuchung von Nahrungs- und Genußmitteln. Bd. VII. 1904. p. 215.

Das zweite Dresdener Wasserwerk in Tolkewitz war im Laufe der letzten Jahre von *Crenothrix polyspora* befallen, was den Verff. Gelegenheit und Veranlassung bot, sich mit den noch wenig bekannten Entstehungsursachen und Lebensbedingungen dieses Pilzes näher zu befassen. Es wurden eingehende chemische Analysen sowohl der befallenen Brunnen in Tolkewitz als auch der von *Crenothrix* völlig frei gebliebenen Brunnen des ersten städtischen Wasserwerkes an der Saloppe ausgeführt. Aus den gewonnenen Resultaten ergab sich, daß im vorliegenden Falle — entgegen der bisher gültigen Anschauung von Merz, Winogradsky und v. Raumer — allein auf Grund des Gehaltes an Eisen und organischer Substanz eine Erklärung für das verschiedene Verhalten der untersuchten Wässer nicht gegeben werden konnte. Eine chemische Untersuchung der in den Brunnen des Tolkewitzer Wasserwerkes abgelagerten organischen Wucherungen, die sich aus stark inkrustierten *Crenothrix* fäden zusammensetzten, ließ aber einen außerordentlich hohen Mangangehalt derselben erkennen, der z. B. in zwei Fällen die Hälfte der Trockensubstanz oder $\frac{2}{3}$ der Asche ausmachte. Die Annahme lag jetzt nahe, daß in den von dem Pilz befallenen Brunnen das Mangan an Stelle des Eisens die Lebensfähigkeit des *Crenothrix* unterhalten und gefördert habe. Die nach der von Knorre angegebenen maßanalytischen Methode ausgeführten quantitativen Manganbestimmungen ergaben denn auch in der Tat unverkennbar, daß ein Abhängigkeitsverhältnis zwischen dem Mangangehalt des Wassers und der Entstehung und Entwicklung der *Crenothrix* in demselben bestand, so zwar, daß die Brunnen, in denen Mangan nicht nachgewiesen werden konnte, frei von *Crenothrix* geblieben sind, die manganarmen Brunnen nur einige Male geringe Pilzabscheidung gezeigt haben, und in den

manganreichsten Wässern auch die stärkste *Crenothrix*-Entwicklung eintrat. Verff. betonen auf Grund dieser Ergebnisse jetzt schon die Notwendigkeit, in Zukunft bei Neuanlagen von Wasserleitungen mehr als bisher den Gehalt des Wassers an Mangan zu berücksichtigen.
Koeppen (Hannover).

Jalowetz, E., Streifzüge durch das Gebiet der Gärungsindustrie. Vortrag, gehalten gelegentlich der Internationalen Ausstellung für Spiritusverwertung und Gärungsgewerbe in Wien 1904. (Allgem. Brauer- u. Hopfen-Ztg. Jahrg. XLIV. No. 109.)

Der Vortragende wies zunächst auf die Wichtigkeit der Gerste bei der Herstellung des Bieres hin, insofern diese in hohem Maße die Fähigkeit besitzt, beim Keimen gewisse Enzyme zu bilden und zu vermehren, welche beim Brauprozess durch andere Hilfsmittel nicht ersetzt werden können. Sodann besprach er die Wirkung der Enzyme, besonders der Diastase, und im Anschluß hieran kurz die Bestrebungen, die in Deutschland zur Zeit gemacht werden, die Gerstenkultur mit allen zu Gebote stehenden Mitteln zu fördern. Endlich wies er auf die Wichtigkeit der Durchführung des Keimprozesses der Gerste, der Umwandlung der letzteren in Malz, die Herstellung der Würze und die in dieser neben Hefe entstehenden Bakterien, sowie deren Bekämpfung hin.
Kausch (Charlottenburg).

Schlönning, H., Nouveau genre de la famille des Saccharomycètes.

Klöcker, A., Une espèce nouvelle de Saccharomyces, *Sacch. Saturnus* Klöcker, ayant des spores caractéristiques. (Comptes rendus des Travaux du Laboratoire de Carlsberg. T. VI. 1903. Livr. 2).

Die in der ersten Abhandlung beschriebene neue Gattung der Familie der Saccharomyceten zeichnet sich dadurch aus, daß die Askosporen zwei Membranen besitzen. Dasselbe ist auch der Fall mit dem früher beschriebenen *Sacch. guttulatus*. Letztere Art wird deshalb in die neue Gattung eingereiht.

Verf. beschreibt eine neue Art, *Saccharomycopsis capsularis*, deren Ascosporen in der Weise keimen, daß die äußere Membran sich mit zwei Klappen öffnet, ungefähr wie eine Kapsel Frucht bei den höheren Pflanzen. Das Exosporium wird durch konz. Schwefelsäure und andere starke Mineralsäuren rot gefärbt. Die Vegetation an der Oberfläche der Nährflüssigkeiten ist weiß, zottig, und die Art bildet ein typisches Mycelium. Sie vermag Maltose, Dextrose, Lävulose und d-Galaktose zu vergären, sondert aber keine Invertin ab und kann nicht Saccharose vergären. Für die vegetative Vermehrung liegt die Optimumtemperatur bei 25 bis 28° C, die Maximumtemperatur bei ca. 38½° C und die Minimumtemperatur unter ½° C. Für die Sporenbildung ist das Optimum bei 25–28° C, das Maximum bei 34½–35° C und das Minimum bei 5–8° C. Die Sporenbildung hat also bez. ein niedrigeres Maximum und ein höheres Minimum als die Sporenbildung, und

diese Art ist also wieder ein Beispiel, daß das von Hansen aufgestellte Gesetz richtig ist.

Verf. beschreibt die Art sehr ausführlich und gibt 6 Abbildungen derselben unter verschiedenen Kulturbedingungen.

Die in Klöckers Abhandlung besprochene Art, *Sacch. Saturnus*, wurde bereits in dieser Zeitschrift, Bd. VIII. 1902. p. 129, in einer vorläufigen Mitteilung beschrieben. In der vorliegenden Abhandlung wird die Art ausführlicher beschrieben und die Beschreibung ist von 6 Abbildungen begleitet.

In der genannten vorläufigen Mitteilung wurde die Gestalt der Sporen als eine flachgedrückte Kugel mit einer Leiste um die Mitte beschrieben; die Sporen besitzen gewöhnlich auch dieses Aussehen in den Gipsblockkulturen. Durch spätere Untersuchungen von Kulturen auf verschiedenen Nährsubstraten hat es sich gezeigt, daß die Gestalt richtiger als zitronenförmig mit einer Leiste von der einen Spitze zur anderen aufzufassen ist. Dies ist besonders deutlich durch Beobachtung der auf Maltosehefewasser entwickelten Kulturen. Die Keimung der Sporen geht in derselben Weise wie bei den gewöhnlichen *Saccharomyces*-Arten vor sich, d. h. durch Sprossung.

Auch diese Art, ebenso wie *Saccharomycopsis capsularis* bestätigt das im vorhergehenden genannte Hansensche Gesetz. Die Maximumtemperatur für die Sproßbildung liegt bei 35–37° C, für die Sporenbildung bei 28–31½° C, die Minimumtemperatur bez. bei 2–4° C und bei 4–7° C.

Klöcker (Kopenhagen).

Melssner, Richard, Die Obstweinbereitung. Stuttgart (Eugen Ulmer) 1904. 82 p.

Verf. behandelt in populärer, leicht verständlicher Darstellung die Herstellung des Obstweines. Von ähnlichen Schriften zeichnet sich das Buch besonders dadurch aus, daß in ihm die Resultate der gärungsphysiologischen Forschung eine eingehende Berücksichtigung finden. Ebenso sind die neueren Untersuchungen über die Zusammensetzung der Obstsäfte, Verbesserungen der Methoden der Most- und Weinuntersuchung, wie auch die Erfahrungen, welche in technischer Hinsicht bei der Herstellung von Obstwein gemacht worden sind, in zweckmäßiger Weise verwendet. 45 sehr gut ausgeführte, dem Text eingefügte Abbildungen zeigen die verschiedensten Keltergeräte und besonders die in Frage kommenden Mikroorganismen. Das Buch dürfte nicht nur ein guter technischer Leitfaden für den Praktiker werden, sondern zur Verbreitung gärungsphysiologischer Kenntnisse in wünschenswerter Weise beitragen.

Schander (Geisenheim).

Harden, A. und Young, W. J., Gärversuche mit Preßsaft aus obergäriger Hefe. (Ber. der deutschen chem. Gesellschaft. Bd. XXXVII. p. 1052–1070.)

Als Resultat der Versuche ergibt sich, daß der einzige, unverkennbar vorhandene Unterschied zwischen den von den Verff.

aus obergäriger Hefe und den von Buchner aus untergäriger Hefe dargestellten Preßsäften in der geringeren Intensität der Gärung liegt, welche der Preßsaft aus obergäriger Hefe in Glukoselösungen hervorruft; demzufolge gewinnt hier die Selbstgärung des Preßsaftes eine relativ größere Bedeutung. In jeder anderen Hinsicht scheinen sich die beiden Arten von Preßsäften völlig gleich zu verhalten. Die chemische Veränderung, welche bei der Vergärung von Glukose eintritt, scheint eine wirkliche alkoholische Gärung zu sein, bei der sich annähernd gleiche Mengen Kohlendioxyd und Alkohol bilden.

Mit dieser dürfte eine andere Veränderung parallel gehen, bei welcher ein gewisser Betrag des Zuckers in nicht reduzierende Stoffe übergeführt wird, die ihrerseits durch Hydrolyse mit Säuren wiederum in reduzierenden Zucker zurückverwandelt werden können. Die Natur dieser Substanzen, sowie der Vorgänge, denen sie ihre Entstehung verdanken, hat noch nicht aufgeklärt werden können.

Koeppen (Hannover).

Fascetti, G., Sopra l'impiego delle culture liquide dei fermenti lattici nell' acidificazione della crema. (Stazioni speriment. agrarie. Bd. XXXVI. 1903. p. 997—1003.)

Wurde dem durch einfaches Aufschwemmen erhaltenen Rahm die im Handel erhältlichen flüssigen Kulturen von Milchsäurehefen zugesetzt, so wurde eine Verkürzung der Ausschüttelungszeit bei der darauffolgenden Butterbereitung erzielt, die Butter nahm aber einen herben bis bitteren Geschmack an. Marktfähige, aromatisch schmeckende Butter wurde erst aus pasteurisiertem Rahm durch dieses Verfahren erhalten.

Pantanelli (Modena).

Fascetti, G., Esperienze sulla fabbricazione del formaggio con latte pastorizzato. (Stazioni sperimentali agrarie. Bd. XXXVI. 1903. p. 1004—1008.)

Es wurden Versuche über den Käse von Stracchino, einen Weichkäse aus roher und pasteurisierter Milch, angestellt. Im zweiten Falle wurde die Labwirkung durch Zusatz von Chlorcalcium oder von Extrakt aus halbreifem, gleichartigem Käse ermöglicht. Er ergab sich, daß Käse aus roher Milch früher reift, während der Ertrag bei Anwendung pasteurisierter, mit Käseextrakt versetzter Milch höher ausfällt.

Pantanelli (Modena).

Welbel, Beiträge zum Studium des Lysimeterwassers und der Nitrifikation des Bodenstickstoffs. (Journ. f. exp. Landwirtsch. Bd. III. 1903. p. 307.)

Verf. stellte in der Zeit von Oktober 1901 bis März 1903 Untersuchungen über die Intensität der Salpeterbildung in Ackerböden von genau bekannter Beschaffenheit an, und zwar derart, daß er sowohl die Ackerkrume für sich allein als auch mit der darunter befindlichen Schicht in Lysimeterkästen von bestimmter Größe (2500 qcm Bodenfläche) einbrachte und den Gehalt der

Abläufe an Ammoniak, salpetriger Säure und Salpetersäure ermittelte. Die Menge des durchgesickerten Wassers betrug durchschnittlich $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{5}$ der in Form von atmosphärischen Niederschlägen niedergefallenen.

Unter den während der Versuchsdauer maßgebenden, des näheren mitgeteilten meteorologischen Bedingungen betrug die durchschnittliche Tagesproduktion von Nitratstickstoff pro Hektar:

1) Für eine Parzelle, welche beim Beginn der Versuche von Sommerweizen geräumt worden war und vorher weder Mineral- noch Stallmistdüngung erhalten hatte, 501 g.

2) Für dasselbe Feld, aber nach einer reichlichen Stallmistdüngung, 821 g. Diese Düngung hatte demnach schon im ersten Jahre ihrer Wirkung die Tagesproduktion an Nitratstickstoff um 320 g gesteigert.

3) Für einen Schlag, welcher 3 Jahre Luzerne getragen hatte, 876 g. Der mehrjährige Anbau von Leguminosen erhöhte demnach die Nitrifikationsenergie des Bodens etwa in gleicher Weise, wie eine Stallmistdüngung.

Eine ganz außerordentlich erhöhte Nitrifikationskraft wies ein der Brachebearbeitung unterworfen gewesener Boden auf, und zwar besonders augenfällig in derjenigen Zeit, in welcher der assimilierbare Stickstoff von der Winterfrucht ausgenutzt werden mußte, d. h. von Oktober bis Juni. Der Gehalt an Nitratstickstoff betrug in dieser Zeit (Oktober 1901 bis Juni 1902)

für das Feld nach Schwarzbrache 65 kg,

" " " " Sommerweizen 27 "

" " " " 3-jähr. Luzerne 47 "

Die Schwarzbrache stellte den folgenden Winterfrüchten die gleiche Menge Nitratstickstoff zur Verfügung, wie eine Stallmistdüngung. Von Oktober 1901 bis Oktober 1902 waren auf dem Felde nach Brache 112 kg, nach Stallmistdüngung 113 kg Nitratstickstoff gebildet worden.

In guter Uebereinstimmung mit der auf solche Weise ermittelten Energie der Salpeterbildung standen die Stickstoffmengen, welche den betreffenden Böden durch die Ernten entzogen worden waren.

Vogel (Posen).

Koch, Alfred, Bodenbakterien und Stickstofffrage.

(Verh. d. Ges. deutsch. Naturf. u. Aerzte. Karlsbad 1902. I. Teil. p. 182.) Leipzig (F. C. W. Vogel) 1903.

Verf. geht nach Erörterung der allgemeinen Gesichtspunkte, nach welchen sich der Kreislauf des Stickstoffs in der Natur vollzieht, eingehend auf die Frage der Festlegung des freien atmosphärischen Stickstoffs durch die Tätigkeit von Mikroorganismen ein. Er weist auf die Sonderstellung hin, welche die Leguminosen bezüglich der direkten Verwendung des elementaren Stickstoffs gegenüber allen anderen höheren Pflanzen einnehmen und bespricht alsdann ausführlich die ohne Symbiose mit höheren Pflanzen vor sich gehende Stickstoffsammlung durch freilebende Mikroorganismen. Die erste näher beschriebene, freien Stickstoff assimilierende

Bakterienart ist das von Winogradsky isolierte und genau studierte streng anaerobe *Clostridium Pastorianum*. Neuerdings gelangte die zuerst von Beijerinck beschriebene Gruppe der *Azotobacter*-Arten zu größerer Bedeutung. Die Beijerincksche Annahme, daß *Azotobacter* nur unter Mitwirkung gewisser anderer Bakterienarten, nicht aber in Reinkultur freien Stickstoff zu binden vermag, daß sogar die eigentliche Stickstoffaufnahme durch die Symbiosebakterien besorgt wird und *Azotobacter* nur den gebildeten löslichen Stickstoff aufzuspeichern hat, konnte Verf. durch eigene Versuche nicht bestätigen. (Inzwischen haben Gerlach und Vogel die Irrigkeit dieser Beijerinckschen Annahme durch umfangreiche Untersuchungen erwiesen (diese Zeitschr. Bd. IX. p. 817). Ihre Versuchsergebnisse sind von von Freudenreich (ebenda, Bd. X. p. 514) und Heinze (ebenda, Bd. X. p. 674) bestätigt worden.)

Verf. bespricht alsdann das praktisch wichtige Problem der Bodenimpfung. *Clostridium Pastorianum* und *Azotobacter*-Arten finden sich fast in allen Bodenarten vor, daher sind die bisher angestellten Versuche, durch weitere Zufuhr solcher Bakterien das Stickstoffsammelungsvermögen der Kulturböden zu erhöhen, ohne Erfolg geblieben.

Schließlich geht Verf. auf die Stickstoffassimilation durch andere Organismen, besonders durch Schimmelpilze und Algen ein und betont, daß diejenigen Lebewesen, welche im Haushalte der Natur den Stickstoff in den Kreislauf zurückführen, doch hauptsächlich unter den Bakterien zu suchen sind. K. schließt mit interessanten Ausführungen über die Bedeutung der Stickstoffsammlung für die Stickstoffernährung unserer Kulturgewächse, über die auf bakteriologischen Prinzipien beruhende Bodenbearbeitung, besonders die Brachewirtschaft, und über die Quantitäten von Stickstoff, welche durch die Tätigkeit von Mikroorganismen dem Boden zugeführt werden können.

Vogel (Posen).

Salfeld, Bodenimpfung bei der Hochmoorkultur.
(Illustr. landw. Ztg. 1904. No. 13.)

Verf. macht einige praktisch wichtige Angaben aus seinen reichen Erfahrungen über die Anwendung von Naturimpferde beim Leguminosenbau auf Moorboden. Er verwendet auf 1 ha etwa 2000—4000 kg frische Erde von einem Boden, auf welchem die betreffende Pflanzenspecies mit Knöllchenbildung gut gewachsen ist. Die erforderliche Impferde erhält S. von kleineren, in der Nähe des neu zu kultivierenden Hochmoors angelegten Parzellen, auf welchen die in Betracht kommenden Leguminosen unter gleichzeitiger Impfung angebaut waren. Im folgenden Jahre steht alsdann Naturimpferde in reichlichen Mengen zur Verfügung.

Die besten Erfolge erzielte Verf. beim erstmaligen Anbau von Leguminosen auf neukultiviertem Hochmoor und auf mineralischem Heideboden. Auf diesen Böden, welche wegen ihrer stark sauren Reaktion frei von Knöllchenbakterien sind, konnte durch Impferde sehr üppiges Wachstum von Schmetterlingsblütlern erzielt werden,

nachdem durch eine Düngung mit Kalk, Kali und Phosphorsäure günstige Lebensbedingungen für jene Organismen geschaffen worden waren. Sind die Leguminosen gut gediehen, dann enthält der Boden für eine Reihe von Jahren gut wirksame Knöllchenbakterien, braucht also beim Anbau derselben Arten nicht wieder geimpft zu werden.
Vogel (Posen).

Nilson, A., Wodurch wird das unlösliche Eiweiß in Gerste und Malz während des Wachsens und Maischens löslich gemacht? (Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation. Jahrg. XXXII. 1904. No. 2.)

Verf. ist auf Grund eingehender Versuche zu dem Schlusse gekommen, daß die Säure erzeugenden Bakterien die Hauptursache der Enzymwirkung in der Gerste und der Maische sind. Durch geeignete Versuche stellte er fest, daß die Wirkung von dem Wasser, mit dem die Gerste angesetzt wurde, zugesetzter Säure wesentlich verschieden ist von der Wirkung der Säure, welche von Bakterien erzeugt wird. Diese Tatsache erscheint ihm nicht überraschend, da die von Bakterien erzeugte Säure sich in unmittelbarer Nähe des unlöslichen Eiweißes befindet und in statu nascendi wirken kann, während die zugesetzte verdünnte Säure das lösliche Eiweiß sofort auszieht und hierauf das koagulierbare niederschlägt. Die von den Bakterien erzeugte Säure dagegen bringt das unlösliche Eiweiß in Lösung, und das gelöste Eiweiß kann nun leicht von der Peptase in die bekannten Abbauprodukte umgewandelt werden. Nilson hat bei der Beantwortung dieser Frage nach der Ursache des Löslichwerdens des unlöslichen Eiweißes in der Gerste und dem Malz die hier in Betracht kommenden Arbeiten Loés, Kjeldahls, Wahls, Ehrichs und Weis', Priors, Fernbachs und Weis' berücksichtigt.

Kausch (Charlottenburg).

Baudouin, M., Histologie et bactériologie des boues extraites à 10 m de profondeur d'un puits funéraire gallo-romain à la Nécropole du Bernard (Vendée). (Compt. rend. de l'acad. d. sciences. T. CXXXVIII. p. 1000.)

Verf. untersuchte den Schlamm, welchen er einer schachtförmigen Begräbnisstätte in Troussepoil in der Vendée in einer Tiefe von 10 m entnommen hatte. Die bakteriologische Prüfung ergab die Anwesenheit einer beträchtlichen Anzahl von Bakterien, die zu identifizieren nicht möglich war. Nur so viel läßt sich sagen, daß die Mehrzahl dieser Mikroben aus Coli-Bacillen bestand. Neben diesen wurden zahlreiche Streptokokken und Staphylokokken beobachtet. Auch Diplokokken und Sarcinen sowie Anaëroben waren vorhanden. — Da Verf. aus den geologischen Verhältnissen schließt, daß es nicht möglich ist, daß die Bakterien durch das Wasser in eine solche Tiefe hinabgeführt worden sind, nimmt er an, daß dieselben sich in den Grabstätten 18 Jahrhunderte lang im Zustande des gehemmten Lebens erhalten haben, und daß sie aus den Tierleichen stammen, welche zugleich mit den menschlichen Aschen-

resten dort vergraben wurden. In der Tat wurden auch Skelettteile von Ziegen, Hunden und der Kopf eines Ochsen in diesen Grabstätten aufgefunden.
Koeppen (Hannover).

Bernard, Noël, Le champignon endophyte des Orchidées.
(Comptes rendus de l'académie des sciences. T. CXXXVIII. p. 828.)

Schon früher hat Verf. den endophytischen Pilz einer Orchidee, einer Kreuzung von *Cattleya Mossiae* mit *Laelia purpurata*, in Reinkultur gezüchtet und nachgewiesen, daß die Samen der Orchidee nur bei Gegenwart dieses Pilzes zum Keimen und zur Weiterentwicklung gelangen.

Das Wachstum des Endophyten ist auf den gebräuchlichen Nährböden ein langames und am charakteristischsten auf gelatinöser Salepwurzelabkochung. Verf. untersuchte noch verschiedene Orchideenarten, indem er kleine Stücke der steril gesammelten Wurzeln auf diesen Nährboden übertrug. Es gelang so, aus der Wurzel von *Cypripedium insigne* einen Hyphomyceten zu züchten, der morphologisch dem aus *Cattleya* identisch war. Auch gelang es, durch Einsaat dieses Pilzes Samen zur Keimung und Entwicklung zu bringen, die von einer Kreuzung von *C. Spicerianum* mit *C. insigne* herrührten. Der Endophyt drang immer von demselben Pol aus in der Richtung gegen die Mikropyle des Samenkorns ein, worauf der Embryo unter Sprengung des Teguments zu wachsen beginnt.

Denselben Endophyten erhielt Verf. auch noch aus *Spiranthes autumnalis*, indessen gelang es hier nicht, Keimung der Samen hervorzurufen.

Versuche, die Endophyten noch anderer Orchideen zu isolieren, gelangen nicht; wie schon bei früheren Versuchen, wurde hierbei nur *Fusarium*-Wachstum erhalten. Die wahren Endophyten entwickeln sich viel weniger zahlreich und viel langsamer. Man hat sie daher früher übersehen und die *Fusarium*-Arten für die wirksamen Endophyten gehalten.

Was die Frage betrifft, ob diese morphologisch so gleichartigen Hyphomyceten doch vielleicht verschiedene Species darstellen, so zeigte der Versuch, daß der Endophyt von *Spiranthes* Samen von *Cattleya* zum Keimen bringt, und daß Samen von *Cypripedium* durch die drei oben erwähnten Pilze in gleicher Weise zur Entwicklung kommen. Da die drei dem Versuch unterworfenen Orchideen einander ziemlich fernstehen und besonders ihre Fundorte weit auseinander liegen, so darf wohl angenommen werden, daß derselbe Pilz, wenn nicht für alle, so doch für die meisten Orchideen die Rolle des Endophyten spielt. Es handelt sich hier wohl ebenso um einen „Familienparasiten“, wie bei dem *Rhizobium* der Leguminosen.
Koeppen (Hannover).

Diedleke, H., Die Aecidien der *Puccinia Stipae* (Op.) Hora. (Annales Mycologici. Vol. I. 1903. p. 341--343.)

Puccinia Stipae auf *St. capillata* kommt auf der Schwelmburg bei Erfurt häufig in Gemeinschaft eines *Aecidium*

Zweite Abt. Bd. XIII.

8

auf *Salvia silvestris* vor. Verf. vermutete, daß beide Pilzformen in genetischem Zusammenhange stehen und konnte dies durch seine angestellten Kulturversuche beweisen. Außer auf *Salvia silvestris* bildet Pucc. *Stipae* bekanntlich nach Bubàk die Aecidienform auch auf *Thymus*-Arten aus.

H. Sydow (Berlin).

Bolle, Johann, Ueber die im Jahre 1903 im Küstenlande beobachteten Pflanzenkrankheiten. (Zeitschrift für das landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich. 1904. p. 185).

Ungemein häufig ist die *Peronospora* auf der Rebenblüte aufgetreten und es hat die anhaltend regnerische Witterung während der Blütezeit allenthalben eine rechtzeitige Behandlung mit der Kupferbrühe verhindert. In einigen Gegenden ist die Weinernte der *Peronospora* geradezu gänzlich zum Opfer gefallen, ohne daß die Krankheit gleichzeitig das Laub besonders stark hergenommen hätte. Nur dort, wo fleißig und ungeachtet des drohenden Regens bespritzt wurde, gelang es, den Schaden zu verhindern. Besonders erfolgreich zeigte sich der Schwefel mit 3 Proz. Kupfervitriol auf den Trauben schon vor der Blüte zerstäubt. Die Zerstäubung des Kupferschwefels hat den Vorteil für sich, daß man die Trauben gleichsam in eine leichte Wolke von feinem Staub einwickelt, welcher sich leicht auf alle Verzweigungen der Kämme niederschlägt, während die Kupferkalkbrühe nicht so gut in die Traube eindringen kann. Die Erfahrungen haben weiter gelehrt, daß die bloße Bespritzung der Blätter ungenügend ist, um die Ernte zu sichern, und daß die rechtzeitige Anwendung der Bekämpfungsmittel auf die Rebenblätter und auf die Trauben die unerläßliche Maßregel gegen die *Peronospora* in den so oft sich wiederholenden regenreichen Frühjahrten ist. Wie in früheren Jahren, so ist auch im Sommer die „Brunissure“ aufgetreten und hat die Traubenreife sehr zurückgehalten. Die Krankheit befällt nur die Blätter, welche hauptsächlich im Mittelteile und zwischen den Blattrippen braun und später fast glänzend werden, als hätten sie einen rostartigen Ueberzug. Im weiteren Verlaufe erweitern sich die Rostflecke, werden wie schorfig und in der Farbe hie und da grau wie die Patina von alten Bronzen. Aeüßerlich hat diese Krankheit nichts gemein mit der sog. „Maladie de Californie“, welche erstere im Küstenlande nur die Blätter befallen und die Traubenreife verhindert hat. Gegen diese Krankheit, welche von Jahr zu Jahr an Intensität zunimmt, helfen Bespritzungen mit der Kupferkalkbrühe nicht, ebenso war auch keine der wichtigsten Rebsorten besonders widerstandsfähig. Nicht geringen Schaden hat der ungleiche Spinner *Bombix* (*Ocneria*) *dispar* L. an den Reben verursacht; die Raupe des Schädlinge ist durch Bespritzung mit 1-proz. Tabakextraktlösung und Kupferkalkbrühe sehr leicht und vollständig zu bekämpfen. Als Feinde des Obstbaues wurden beobachtet die Schädlinge des Feigenbaumes *Hypoborus ficus* Eriks., *Sinoxylon sexdentatum* Oliv., *Xyloperthapustulata* F. und *X. chevrieri*. Die befallenen Triebe sind abzu-

schneiden und zu verbrennen. Dasselbe Mittel ist auch gegen die Bastkäfer der Oelbäume *Hylesinus oleiperda* F. und *Phloeotribus scarabaeoides* Bernard zu verwenden. Nicht geringen Schaden verursachten die Larven des Rüsselkäfers *Balanus elephas* Gyllh., sowie die der Motte *Carpocapsa* (*Tortrix*) *amplana* in den Früchten der Edelkastanie (Gegenmittel noch unbekannt), der kleine Frostspanner *Cheimatobia brumata* L. auf Kirschbäumen (Anlegen von Leimringen), der Apfelblütenstecher *Anthonomus pomorum* L. und der Birnknospenstecher *Anthonomus piri*, welche letztere die Obsternte in vielen Orten tatsächlich dezimierten (Bekämpfungsmittel ebenfalls noch unbekannt). Um der Gefahr der Einschleppung der Schildlaus *Diaspis pentagona* aus Italien, durch junge Maulbeerpflanzen vorzubeugen, hat sich am billigsten und wirksamsten das sorgfältige Abbürsten der befallenen Baumrinde mittels Stahldrahtbürsten und hierauf folgende Bepinselung mit Emulsionen von Teerölen und Sodalösungen bewährt.

Stift (Wien).

Denkschrift, fünfundzwanzigste, betreffend die Bekämpfung der Reblauskrankheit 1902 und 1903 (bis 1. Oktober). Bearb. im kaiserl. Gesundheitsamte. 189 p. u. 5 Tafeln Karten. Berlin 1904.

Die von den Bundesregierungen in Reblausangelegenheiten in den Rechnungsjahren 1901 und 1902 aufgewendeten Kosten betrugen rund 1798908 M. Im ganzen wurden bisher 12066305 M. verausgabt.

Stand der Reblauskrankheit im Deutschen Reiche.

1) Preußen. In der Rheinprovinz zeigten die Revisionen ein günstiges Ergebnis. 1903 wurden nur noch 47 verseuchte Weinstöcke aufgefunden. In der Provinz Hessen-Nassau fanden sich 6 Reblausherde mit 471 kranken Stöcken. Vernichtet wurden 24712 Reben auf einer Fläche von ca. 2 ha. In der Provinz Sachsen wurden 15 Reblausherde mit 3386 kranken Stöcken festgestellt.

2) Bayern. Im fränkischen Weinbaugebiete wurden 15 neue Herde entdeckt: 14 mit 738 kranken Stöcken in der Gemarkung Sickershausen, 1 mit 15 kranken Stöcken in der Gemarkung Kitzingen. 1903 fanden sich nur noch ein neuer Reblausherd in der Gemarkung Hohenheim und 2 kranke Weinberge bei Sickershausen.

3) Königreich Sachsen. Im I. Aufsichtsbezirke rechts der Elbe waren neu befallen 159 Herde mit 867 kranken Reben, im I. Aufsichtsbezirke links der Elbe 10 Herde mit 263 und im IV. Aufsichtsbezirke 5 Herde mit 372 kranken Reben. Die Nachuntersuchung der 1901 aufgefundenen und desinfizierten Reblausherde war wenig befriedigend. Es wurden an den beiden erstgenannten Bezirken noch 102 Reblausherde gefunden, im IV. Bezirke waren nur wenig Wurzelanschläge reblausfrei. Auf den in der Flur Naundorf 1902 desinfizierten 16 Herden fanden sich 1903 nur noch 57 verseuchte Reben, 4 Reblausherde wurden neu entdeckt.

8*

4) Württemberg. Auf den älteren Herden wurden Rebläuse nicht mehr gefunden, 11 neue Herde mit 199 verseuchten Reben fanden sich in den Gemarkungen Neckarsulm, Kochendorf, Niedernhall und Oedheim. Es wurden 8982 Reben vernichtet.

5) In Baden wurde die Reblaus auch 1902 nicht gefunden.

6) Im Großherzogtum Hessen wurde im Kreis Oppenheim 1902 1 Herd mit 120 verseuchten Stöcken, 1903 noch ein Tochterherd mit 2 Stöcken entdeckt.

7) Elsaß-Lothringen. 1902 wurden 143 Reblausherde in 28 Gemarkungen ermittelt. Neu hinzu kamen die Gemarkungen Dorlisheim, Habsheim, Hattstadt, Völklinghofen im Elsaß und Corny, Jussy, Faily, Agny und Vrémy in Lothringen. Im Elsaß wurden 39614 Reben auf 3,85, in Lothringen 32043 Reben auf 1,3 ha Fläche vernichtet.

Stand der Reblauskrankheit im Auslande.

1) Frankreich. 1902 wurden für reblausbefallen erklärt die Gebiete der Kantone von Châtenois, Arrondissement Neufchâteau, von Mirecourt und Darney im Dep. Vosges und das Gebiet von Montmédy im Dep. Meuse. Der freie Verkehr mit Reben jeglicher Herkunft wurde gestattet in den Gemeinden Fontaine-Luyères (Aube), Saint-Brévinsles-Pins (Loire-Inférieure), Assat und Ousse (Pau), Auga und Doumy etc. (Basses-Pyrénées).

2) In Spanien sind 902012 ha infiziert, wovon 50581 ha mittelst amerikanischer Unterlagsreben wiederhergestellt wurden. Die Provinzen Alava, Albacete, Almeria, Alicante, Badajos, Baleares, Barcelona, Burgos, Caceres, Cadiz, Cordoba, Granada, Gerona, Huesca, Jaën, Leon, Logroño, Lérida, Lugo, Chälaga, Murcia, Navarra, Orense, Oviedo, Palencia, Salamanca, Sevilla, Tarragona, Valladolid, Zamora, Zaragoza sind amtlich von der Reblaus befallen erklärt worden.

3) Schweiz. Im Kanton Zürich wurde 1902 eine bemerkenswerte Abnahme der Seuche festgestellt. Im ganzen wurden 263 Reblausherde mit 1087 verseuchten Reben ermittelt. Zerstört wurden 14038 Weinstöcke, gerodet wurde eine Fläche von 91,67 Ar. Von 1886—1902 wurden im ganzen ermittelt 4726 Herde, vernichtet 493065 Weinstöcke auf 35,53 ha; für Reblausbekämpfung ausgegeben wurden 1256290 frs. Im Kanton Thurgau mußten von 1897 bis 1902 270124 Stöcke vernichtet werden. In dem beträchtlichsten Seuchenherd Landschlacht ist nach 3-jährigem Kampf das Uebel fast ganz verschwunden, schwieriger scheint einstweilen die Sachlage noch am Immenberg. Im Kanton Neuenburg ist es nicht mehr möglich, die Vernichtungsarbeiten fortzuführen in den Weinärten zwischen Neuchâtel Ville und Bevaix, auch in anderen Gebieten haben die Herde beträchtliche Zunahme erfahren. 1901 wurden ermittelt 3869 Herde mit 88637 kranken Reben, vernichtet 231670 qm Weinbergsfläche. Seit 1877 sind vernichtet worden 1076902 qm mit einem Kostenaufwande von 1687813 frs. 1902 wurden 959 Herde mit 22320 befallenen Reben ermittelt und 57284 qm gerodet oder mit Schwefelkohlenstoff behandelt. Auch im Kanton Genf fährt die Reblaus fort, sich in allen Weinbergen

auszubreiten. Viele Weinbergsflächen sind mittelst amerikanischer Reben wiederhergestellt worden. Im Kanton Waadt wurden 1901 1072 Reblausherde auf 93593 qm Fläche vernichtet. Entdeckt wurde die Reblaus in 81 Gemeinden, von denen 10 zum ersten Male verseucht gefunden wurden. Die Versuche mit amerikanischen Reben führten zu befriedigenden Ergebnissen. 1901 beliefen sich die Gesamtkosten auf 189623 frcs., 1902 166152 frcs.; 1902 wurde die Reblaus in 79 Gemeinden gefunden. Von 1886—1902 wurden von den 6585 ha Weinbergsfläche 55,3632 ha vernichtet. Das Vordringen der Reblaus ließ sich nicht verhindern, ist aber doch wesentlich verlangsamt worden. Im Kanton Tessin wurden 1901 Reblausherde in 7 Gemeinden gefunden, 1902 wurden Herde nur in den bereits verseuchten Gemeinden gefunden.

4) Italien. Ende 1901 waren von den 69 Provinzen des Königsreichs 38 von der Reblaus verseucht; die Zahl der verseuchten Gemeinden stieg auf 998, wovon 47 zum ersten Male als verseucht erkannt wurden und zwar in Venetien, der Lombardei, Piemont, Ligurien, den Abruzzen, Kalabrien, Apulien, Sizilien, Sardinien. Die Vernichtungsarbeiten erstreckten sich auf eine Fläche von 64,8081 ha, die Kosten beliefen sich 1900/1901 auf 998966 Lire; es wurden von 40 Anstalten Reben verteilt. 1902 waren in der Provinz Alessandria 10 Ortschaften, in der Provinz Novara 52, in der Provinz Turin 11, im Konsulatsbezirk Mailand 12 Gemeinden verseucht, in der seit Jahren fast ganz verseuchten Provinz Porto Maurizio dringt die Reblaus weiter vor, in den Provinzen Venedig, Treviso, Udine wurde sie hier und da in geringem Maße wahrgenommen, im Konsulatsbezirk Bologna war die Reblauskrankheit 1902 zurückgegangen, in Palermo stetig weiter verbreitet. In Süditalien waren 13 Provinzen mit von 1380 Weinbau treibenden Gemeinden 153, in den 7 Provinzen Siziliens alle 332 Weinbau treibenden Gemeinden verseucht.

5) Oesterreich-Ungarn. In den verseuchten Teilen Deutsch-Tirols wurde auf einer Gesamtfläche von 57 ha die Reblaus in 104 Weingartenparzellen ermittelt. In den übrigen verseuchten Ländern Oesterreichs hat die Ausbreitung sehr zugenommen. 1901 wurde das Auftreten der Reblaus in Oesterreich in zusammen 114 Gemeinden festgestellt, welche eine Weinbaufläche von 22684 ha umfassen, davon befinden sich 93 Gemeinden innerhalb und 21 außerhalb der dem freien Rebenverkehr bereits früher geöffneten Gebiete. Es entfielen auf Niederösterreich 58, Mähren 11, Steiermark 16, das küstenländische Verwaltungsgebiet 15 und auf Dalmatien 11 neu verseucht gefundene Gemeinden. Die Zunahme des Seuchengebietes für alle Länder ausschließlich Tirols betrug 1901 23986 ha, die mit veredelten amerikanischen Reben bepflanzte Weinbergsfläche 17795 ha; von Staatswegen wurden an Wurzel- und Schnittreben abgegeben 4341060 Stück. Zur Wiederherstellung der zerstörten Weingärten wurden 1901 unverzinsliche Staatsdarlehne von 245724 Kronen bewilligt.

Im Jahr 1902 wurde in Oesterreich die Reblaus in 16 politischen Bezirken mit 62 Ortsgemeinden die Reblaus zum ersten

Male beobachtet. In Steiermark hat die Ausbreitung 1902 stark zugenommen, so daß man befürchtet, daß das ganze steiermärkische Weinbaugebiet in wenigen Jahren verfallen sein wird, in Tirol ergab die Revision zufriedenstellende Resultate.

In Ungarn (ausschließlich Kroatien-Slavonien) hat der Umfang des Weinlandes 1901 wieder zugenommen. Er betrug 1900 221 838 ha, 1901 227 047 ha. Davon standen in vollem Ertrage 110 362 ha, neubepflanzt wurden 54 820 ha, veraltet waren 26 381 ha. Mit amerikanischen Reben bepflanzt waren im ganzen 38 615 ha. Von dem ganzen Weinlande waren 15,6 Proz. (1900 15,9 Proz.) reblausverseucht, wovon 16 215 ha mit Schwefelkohlenstoff behandelt wurden. Die Zahl der neuverseuchten Gemeinden betrug 1901 50; seit dem ersten Auftreten des Insekts 1875 ist sie auf 3162 gestiegen. In den staatlichen Weinrebanlagen wurden 1901/1902 22 836 600 amerikanische Reben verabfolgt.

In Kroatien-Slavonien ging die Weinbaufläche von 1900 auf 1901 um 1470 ha zurück. Im vollen Ertrage standen 26 429 ha, d. i. 71,6 Proz. der gesamten Weinbaufläche, neu angelegt wurden 5981 ha, mit amerikanischen Reben bepflanzt 14 340 ha. Von der Reblaus befallen waren 12,2 Proz. (1900 14,8 Proz.). Neu betroffen wurden 16 Gemeinden; die Zahl der seit 1875 verseuchten Gemeinden erhöhte sich damit auf 1502.

6) Rußland. In Bessarabien gewinnt die Reblausverseuchung immer mehr an Ausdehnung, die Wiederherstellung der Weingärten macht nur geringe Fortschritte.

7) Rumänien. 1899 betrug die Weinbergfläche 148 050 ha, die infolge der Reblausverseuchung bis 1902 auf 142 714 ha zurückging. 1902 wurde der Schädling in den folgenden bisher von ihm verschonten Orten festgestellt: Nicoresti (Mittelpunkt eines der wichtigsten Weinbaugebiete), Jonasesti (beide im Bezirk Tekutsch), Groschani (Bezirk Bacau), in 4 Gemeinden des Bezirks Jassy, in Ruginoasa (Bezirk Suceava), in Scarischoara (Bezirk Romanatz).

8) Serbien. Die Weinberge in einzelnen Bezirken der Belgrader, Valjewoer, Vranjaer, Podrinjer Kreise, sowie in allen Bezirken der Kreise Rudnik, Tschatschek, Pirot, sowie im Bezirke Kossanitzza (Kreis Toplitza) sind verseucht.

9) Bulgarien. Klima und Boden sind der Verbreitung der Reblaus außerordentlich günstig. Der lange Sommer und Herbst begünstigt ihre Vermehrung derart, daß sehr oft 7—8 Generationen in einem Jahre festgestellt werden konnten. Das warme Klima begünstigt dazu das massenhafte Auftreten geflügelter Rebläuse, die in nördlichen Ländern, wie auch in Deutschland nur verhältnismäßig selten gefunden werden, während sie in Bulgarien zu Milliarden auftreten. Die Gemeindevorsteher kümmern sich um Durchführung des Reblausgesetzes nur wenig, das Beaufsichtigungspersonal ist zu gering und infolgedessen wird durch die Weinbergarbeiter und den Weidegang des Viehes in den Weingärten nach der Lese die Verbreitung gefördert. Der Gang der Reblausverbreitung hat eine deutliche Richtung von Westen nach Osten. Seit 1884, wo die Reblaus zuerst in dem an das serbische Gebiet an-

stoßenden Kreise Widdin auftrat, hat sie sich unaufhörlich verbreitet und selbst die mächtige Felsenkette des Balkangebirges vermochte ihr Vordringen nicht zu hindern. Die Reblaus hat sich bis 1901 eingenistet in 37 Kreisen, d. i. nahezu der Hälfte aller bulgarischen Kreise, in 500 Gemeinden ($\frac{1}{3}$ aller Weinbau treibenden Gemeinden auf 20889 ha, d. i. 18,83 Proz. der gesamten Weinbergfläche.

10) Türkei. In Anatolien und Rumelien hat 1902 die Verheerung der Weinberge durch die Reblauskrankheit ihren Fortgang genommen. So sind in den Gemeinden Tavchandjil und Daridja je 100 ha zerstört worden. Das ganze Gebiet zwischen Haidar Pascha und Tavchandjil gilt für verloren. Ebenso sind in Rumelien die Reben der Gemeinden bis Kutschuk Tschekmedje größtenteils vernichtet. In Anatolien wurden gegen 150 000 Stück amerikanischer Reben für etwa 30 ha, in Rumelien nur gegen 20 000 Stück für etwa 4 ha verteilt. An die Besitzer zu beiden Seiten des Bosphorus, die ihre Reben fast sämtlich verloren, wurden 20 000 Stück, nach Smyrna 150 000 Stück, im ganzen 340 000 Stück amerikanischer Reben versandt.

11) Amerika. In Kalifornien sind, mit Ausnahme der Weingärten am Fluß Russe und auf den Bergen von Santa Cruz, alle alten Weinberge von der Reblaus zerstört worden oder auf dem Wege der Zerstörung. An Stelle der alten Weinberge oder an neuen Orten werden seit 6—8 Jahren neue und auf widerstandsfähigen Reben veredelte Reben mit gutem Erfolg angelegt.

12) Australien. In Victoria wurde ein besorgniserregendes Auftreten der Reblaus 1902 nicht beobachtet. Die Bekämpfung derselben geschieht nur noch durch Ausrottung der verseuchten oder Neuanpflanzung amerikanischer Reben.

Die Anlagen der vorliegenden Denkschrift enthalten des weiteren Bekanntmachungen betreffend das Verzeichnis der deutschen Weinbaubezirke in Bayern, Einteilung von Elsaß-Lothringen in 86 Weinbaubezirke, Verordnungen des kaiserl. Gouvernements von Deutsch-Südwestafrika, betreffend die Abwehr und Unterdrückung der Reblauskrankheit, Berichte über die Reblausbekämpfungsarbeiten und Beobachtungen in der Rheinprovinz, Hessen-Nassau, Provinz Sachsen, in Sickershausen und Kitzingen, Unterfranken, Königreich Sachsen, Württemberg, Großherzogtum Hessen, Elsaß-Lothringen; Polizeiverordnungen etc. bezüglich Köln, Unterfranken, Aschaffenburg, Oberau bei Meissen, einen eingehenden Bericht über die Rebenveredelungsstationen im Jahre 1902. Der letztere enthält die Ergebnisse von den Rebenveredelungsstationen Engers-Sayn (mit den Versuchsweinbergen Bendorf, Linz, Ahrweiler, Dernau, Kreuznach), Eibingen, auf der Leideck, Trier und den Versuchsweinbergen zu Temmels, Cues, Bacharach und Bretzenheim, in der Provinz Sachsen (Pödelist, Lobitzsch, Zscheiplitz etc.) und Elsaß-Lothringen. Als letzter Anhang findet sich ein Bericht über Auftreten und Bekämpfung der anderen Rebenkrankheiten im Jahre 1902. Es werden zunächst die Schädigungen der Reben durch Witterungseinflüsse, dann die Rebenschädlinge tierischer und zuletzt die pflanzlicher Natur erörtert.

Von Tieren zeigte sich der Heu- oder Sauerwurm, Traubenwurm, *Tortrix ambiguella* und *Graptolitha botrana* Schöff. in der Rheinprovinz (nächst der Reblaus als beträchtlichster Feind, in Hessen-Nassau in geringerem Umfang, in Schlesien vereinzelt, in der bayerischen Pfalz in höheren Lagen beträchtlich, im Königreich Sachsen, in Württemberg, Baden, Großherzogtum Hessen wenig, während er in Elsaß-Lothringen beträchtlichen Schaden anrichtete. Der Springwurmwickler *Tortrix pilleriana*, *Pyrallis vitana* trat 1902 in der Rheinprovinz und bayerischen Pfalz stark und schädigend auf, im Großherzogtum Hessen zahlreicher als früher, in Elsaß-Lothringen zum ersten Male in großem Maßstabe in Hessen-Nassau, Schlesien, Königreich Sachsen, Württemberg, Baden, Großherzogtum Sachsen vereinzelt.

Wenig schädigend traten auf Ackereulenraupe, *Agrotis obelisca* in Elsaß-Lothringen, Rhombenspanner, *Boarmia gemmaria* (Rheinhessen), Kupferglucke und Weinschwärmer (Provinz Sachsen), der gefurchte Lappenrüssler *Otiorrhynchus sulcatus* (Rheinprovinz, an der Saar, Linz, Vallendar, Rheus, an der Obermosel); der Nascher, *Otiorrhynchus ligustici* (Schlesien); Lappenrüssler, *O. raucus* (Provinz Sachsen), der Weinstockfallkäfer, *Adoxus vitis* (Hessen-Nassau, Provinz und Königreich Sachsen, Württemberg, Baden, Elsaß) und der Rebenstecher *Rhynchites betuleti* (Rheinprovinz, Hessen-Nassau, Schlesien, bayerische Pfalz, Königreich Sachsen, Elsaß-Lothringen) traten dagegen stellenweise schädlich auf. Maikäferengerlinge (Provinz Sachsen, Württemberg, Elsaß-Lothringen) und Julikäfer *Anomala uenea* traten (Königreich Sachsen, Elsaß), ebenso wie die Weinstockcikade *Typhociba vitis* 1902 (Königreich Sachsen, Elsaß) nur vereinzelt auf. Weiter Rebenschildlaus *Pulvinaria vitis* (Rheinprovinz Hessen-Nassau, Königreich Sachsen, Württemberg, Baden, Gotha, Elsaß-Lothringen), *Mytilaspis vitis* (Königreich Sachsen) *Dactylopius vitis* (bayerische Pfalz); Weinblattmilbe *Phytoptus vitis* (in Hessen-Nassau und Schlesien vereinzelt, Provinz und Königreich Sachsen verbreitet), auch in Württemberg, Baden, Elsaß-Lothringen), Milbenspinne *Tetranychus telarius* (bayerische Pfalz, Königreich Sachsen); Wurzelälchen, *Anguillula radicicola* (Hessen-Nassau, Königreich Sachsen, Elsaß-Lothringen); Gallmücke, *Cecidomyia vitis* (in Elsaß), *Clinidiplosis* sp. (in der Rheinprovinz schwere Schädigungen bewirkend), Wespen (Hessen-Nassau), Wild (Rehe, Kaninchen in der Rheinprovinz). Wild und namentlich Vögel traten stark schädigend im Königreich Sachsen, letztere auch in Hessen-Nassau auf. In Baden vernichteten die Dachse in der Gemarkung Wiesloch ca. 20 Proz. der Ernte.

Von Pflanzenschädlingen trat der falsche Meltau *Peronospora viticola* zwar allenthalben mehr oder weniger stark auf, wurde aber durch Bespritzen mit Kupferkalkbrühe in Schranken gehalten. Der Aescherig *Oidium Tuckeri* trat stark auf und richtete stellenweise großen Schaden an, so an der Obermosel, wo das Schwefeln nicht rechtzeitig vorgenommen wurde, auch in der Provinz Hessen-Nassau trat er stark auf, ebenso in Baden, Württem-

berg, der bayerischen Pfalz, Provinz Brandenburg, vereinzelt im Königreich Sachsen. Der schwarze Brenner, *Sphaceloma ampelinum* trat vereinzelt in Baden, Württemberg, Königreich Sachsen, Rheinprovinz auf, in der bayerischen Pfalz wurde er nur vereinzelt lästig; der rote Brenner in der Rheinprovinz, Hessen-Nassau, Schlesien, bayerische Pfalz vereinzelt, im Königreich Sachsen sehr verbreitet, ebenso in Baden. Der Wurzelschimmel *Dematophora necatrix* wurde in Hessen-Nassau durch gebrauchte, nicht desinfizierte Rebpfähle verbreitet; er wurde 1902 wieder im Bezirke Lindau beobachtet, in Baden im Abnehmen, auch in Württemberg nur wenig. Im Königreich Sachsen nimmt er an Ausdehnung zu; auch im südlichen Elsaß, Unterelsaß, Lothringen fand er sich. Rußtau, *Capnodium salicinum*, wurde nur wenig verspürt. In der Pfalz traten in einigen Weinbergen Bakterienkrankheiten auf. Auch die Chlorose, Mauke (Grind) und Melanose trat 1902 an mehreren Orten auf — Krankheiten, deren Ursache teils noch unbekannt, teils in ungünstigen Boden- und Witterungsverhältnissen zu suchen ist.

Ludwig (Greiz).

Kieffer, J. J., Monographie des Cynipides d'Europe et d'Algérie. T. II. Fasc. 1. 8°. 288 p. avec 9 planches. (Species des Hyménoptères d'Europe et d'Algérie .. Fondé par Edm. André, continué sous la direction de Ernest André. T. VII, bis.) Paris (A. Hermann) 1903. 16 fcs.

Der vorliegende Band des großen Hymenopterenwerkes enthält die zoophagen Gallwespen, speziell die Allotriinen, Eucölinen und den Anfang der Figitinen. Jede dieser Gruppen wird zunächst im allgemeinen nach dem äußeren Bau, der Lebensweise und der geographischen Verbreitung ihrer Angehörigen charakterisiert, dann folgt die genaue systematische Beschreibung der letzteren selbst, unter Berücksichtigung der gesamten darüber vorhandenen Literatur. Auch einige neue Arten werden beschrieben. Es ist ein Werk für den zoologischen Spezialforscher, für diesen jedoch unentbehrlich.

F. Braem (Berlin).

Houard, C., Caractères morphologiques des Acrocécidies caulinaires. (Compt. Rend. Acad. sc., Paris. T. CXXXVIII. 1904. p. 102.)

Verf. unterscheidet drei Gruppen von endständigen Stengelgallen:

1) *Eriophyes Geranii* (auf *Geranium sanguineum*), *Aphis Grossulariae* (auf *Ribes rubrum*) etc. erzeugen Gallen, bei welchen der Parasit oberflächlich auf den infizierten Pflanzenteilen sich aufhält. Die „cecidogene Wirkung“ erstreckt sich auf die letzten Internodien, die gestaucht erscheinen; die Blätter bilden ein wenig dichtere Büschel, Stiele und Spreiten sind gefaltet und hyperplastisch deformiert.

2) *Perrisia genisticola* (auf *Genista tinctoria*), *P. capitigena* (auf *Euphorbia cyparissias*), *P. Taxi* (auf *Taxus baccata*), *Janetiella thymicola* und *Eriophyes Thomasi* (auf *Thymus Serpyllum*) u. a. erzeugen Gallen,

bei welchen der Parasit ebenfalls oberflächlich aufsitzt. Die Internodien bleiben sehr kurz, die Stengelglieder verdicken sich. Es entsteht ein artischokenähnlicher Blattschopf; vielfach Haarbildung. Das Mesophyll homogen, die Leitbündel hypertrophiert.

3) *Isosoma graminicola* (auf *Agropyrum*), *J. hyalipenne* (auf *Psamma arenaria*), *Lonchaea lasiophthalma* (auf *Cynodon Dactylon*) etc. erzeugen Gallen, bei welchen der Parasit im Innern sich aufhält, im Mark nahe am Vegetationspunkt. Die Differenzierung der Gewebe wird gehemmt, die Spreiten bleiben klein, die Blattscheiden sind kurz und breit. Die oberen Internodien werden im Wachstum gehemmt. Die Leitbündel sind deformiert, die Verholzung wird verzögert.

Küster (Halle a. S.).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Hausmann, Walther, Zur Kenntnis des biologischen Arsennachweises. (Chem. Beiträge zur Physiologie und Pathologie. Bd. V. 1904. p. 397.)

Nach den Mitteilungen des Verf. kommt die bekannte Eigenschaft von Organismen, aus sehr verdünnten Arsenlösungen eigenartige Verbindungen von knoblauchartigem Geruche zu bilden (was bekanntlich am ausgesprochensten bei entsprechenden *Penicillium brevicaulis*-Kulturen zu beobachten ist), auch der Aktinie *Aiptasia diaphana* Rapp. bzw. den in Symbiose mit ihr lebenden gelben Algenzellen zu. Auch das Verhalten dieser Organismen gegen Tellur- und Selenverbindungen entspricht nach dem Verf. ganz demjenigen von *Penicillium brevicaulis*. Die *Aiptasia diaphana* ist übrigens ein an und für sich glashelles Tier, welches jedoch durch symbiotisch in ihm lebende Algenzellen mehr oder weniger gelb bis gelbbraun gefärbt ist, so daß es ziemlich nahe liegt, die Entwicklung der obigen Geruchsstoffe (Arsine) den Algenzellen und nicht den Aktinien selbst zuzuschreiben. Diese Vermutung sucht Verf. zunächst durch den stärkeren Geruch der ausgeworfenen Algenzellen und den sehr schwachen von nahezu algenfreien Tieren zu begründen. Im übrigen tritt die Reaktion ohne weiteres bei Anwesenheit von arseniger Säure in Meerwasser ein, in welchen algenführende Aiptasien vorkommen.

Im übrigen sind bekanntlich umfangreichere und auch die ganze Frage des biologischen Arsennachweises ziemlich erschöpfende Untersuchungen neuerdings schon von Maassen angestellt worden, indem dieser Forscher schließlich vor allem auch die Frage eingehender erörtert, ob die bekannte Gosio'sche Reaktion an Bedeutung für den Arsennachweis verliert, nachdem festgestellt werden konnte, daß sie unter Umständen nicht nur beim Arsen, sondern auch beim Tellur, und wenn auch unter etwas veränderter Geruchsbildung beim Selen eintritt. Diese Frage ist jedoch nach den Ausführungen Maassens zu verneinen, so daß also bei Beachtung von gewissen näher angegebenen Vorsichtsmaßnahmen die Zuverlässigkeit des biologischen Ver-

fahrens für den Arsennachweis nicht bestritten werden kann. [Cf. hierzu und zur näheren Orientierung die Originalmitteilungen: A. Maassen, Die biologische Methode Gosios zum Nachweis des Arsens und die Bildung organischer Arsen-Selen-Tellurverbindungen (methylierte bzw. äthylierte Arsenwasserstoffe etc.) durch Schimmelpilze und Bakterien (Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XVIII. 1902. p. 475 etc.)] Heinze (Halle a. S.).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Volkart, A., Pflanzenschutz. (S.-A. aus XXVI. Jahresbericht der Schweizerischen Samenuntersuchungs- und Versuchsanstalt in Zürich. 1903.)

Hervorzuheben ist, daß wieder Beobachtungen gemacht worden sind über die Schädlichkeit von *Epichloë* für das Vieh, und daß die Anstalt Untersuchungen von Futter auf das Vorhandensein dieses Pilzes übernimmt. Weiter sind die Tatsachen von Interesse, daß *Peronospora trifoliorum*, *Pseudopeziza Trifolii* und *Erysiphe Martii* auf amerikanischem Rotklee bzw. Luzerne stark auftraten, auf den vergleichsweise angebauten europäischen Provenienzen dagegen nicht. Ähnlich verhielt sich *Puccinia coronata*, die ausschließlich den amerikanischen Wiesenschwingel befiel. Auf Rotklee wurde neu für die Schweiz *Macrosporium sarcinaeforme*, auf Luzerne *Urophlyctis Alfalfae* nachgewiesen. Weiter wird eine *Ovularia Lolii* Volkart von *Lolium italicum* und *L. perenne* neu beschrieben und abgebildet, die sich besonders durch ihre Sporengröße von den anderen Gramineen bewohnenden Ovularien (*O. pulchella* und *O. Holcilanati*) unterscheidet. Zum Schlusse werden noch einige nähere Angaben über *Stagonospora Trifolii* Fautr. und die durch diesen Pilz hervorgerufenen Blattflecken des Weißklee gemacht.

Appel (Dahlem).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Ergates, The bacteriological laboratory Maritzburg. Natal-Agric. (Journ. and mining Rec. Vol. VII. 1904. N. 2. p. 445—459. 3 Taf.)

Herrera, A. L., Comisión de Parasitología Agrícola. Suero antipon zoñoso para combatio los efectos de las mordeduras de los serpientes y de los piquetes de los alacranes. (Boletín de la Secretaria de fomento. Segunda época. Mexico. Año 3. 1904. N. 10. I. p. 761—766.)

Wimmenauer, Karl, Jahresbericht über Veröffentlichungen und wichtigere Ereignisse im Gebiete des Forstwesens, der forstl. Zoologie der Agrikulturchemie, der Meteorologie und der forstlichen Botanik für das Jahr 1903. Frankfurt a. M. (Sauerländer) 1904. 93 p. 4°. Suppl. zur Allg. Forst- u. Jagd-Ztg. 3,60 M.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Claudits**, Untersuchungen über die Brauchbarkeit des von Endo empfohlenen Fuchsin-agars zur Typhusdiagnose. (Hyg. Rundschau. Jg. XIV. 1904. N. 15. p. 718—723.)
- Hönnicke, G.**, Fleischdämpfer 2, noch ein neuer Apparat zum Sterilisieren bedingt tauglichen Fleisches. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1904. Heft 11. p. 372—380. 3 Fig.)
- Jorns**, Ueber die Brauchbarkeit des Malachitgrün-Nährbodens zum Nachweis von Typhusbacillen. (Hyg. Rundsch. Jg. XIV. 1904. N. 15. p. 713—718.)
- Neues Revolver-Objektiv für Trichinen-Mikroskope. (Rundsch. a. d. Geb. d. Fleischbeschau. Jg. V. 1904. N. 15. p. 264. 1 Fig.)
- Rosenblatt, Stephanie**, Vergleichende Untersuchungen über die verschiedenen Methoden zum Nachweis der Tuberkelbacillen im Sputum. (Hyg. Rundsch. Jg. XIV. 1904. N. 14. p. 670—673.)
- Schwarz, C.**, Prüfung von Pergamentpapier. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XIV. 1904. N. 32. p. 373—374.)

Systematik, Morphologie.

- Austen, Ernest, E.**, A revised synopsis of the Tsetse-Flies (Genus Glossina Wied.) with Notes on Glossina tachinoides. (Ann. and Mag. of nat. hist. Vol. XIV. 1904. N. 80. p. 151—155.)
- Bacterial fertilizer. (Natal-Agric. Journ. and mining Rec. Vol. VII. 1904. N. 3. p. 225—227.)
- Beijerinck, M. W.** und **van Delden, A.**, Over de bacterien, welke bij het roten van vlas werkzaam zijn. Verslag van de gewone vergaderingen der Wis- en natuurk. afdeeling. Deel. 22. 2. Ged. 1904. p. 673—693. 1 Taf. u. 4 Fig.)
- Casella, A.**, Eustrongilo gigante (Strongylus gigas) trovato nel rene destro di un cane: nota clinica ed anatomo-patologica. Parma tip. Zerbini 1903. 8°. 7 p.
- Chalmers, A. J.**, Ascaris lumbricoides in the liver and pancreas in Man. Spolia Zeylanica. Colombo. Part 5. (Vol. II. P. 1) 1904.
- Chatin, J.**, Les moustiques à Paris, moyens d'arrêter leur développement. (Ann. d'hyg. publ. et de méd. légale. Sér. 4. T. I. 1904. p. 97—108.)
- Cohn, Ludwig**, Zwei parasitische Infusorien aus Discoglossus pictus. (Arch. f. Protistenk. Bd. IV. Heft 1. p. 43—63. 1 Taf.)
- Corti, Alfredo**, Zooecidi italiani. (Atti soc. Ital. sc. nat. e Museo civico st. nat. Milano. Vol. XLII. 1903. Fasc. 4.)
- Guarini, M.**, La Diaspis pentagona del gelso: istruzione pratica per riconoscerla e combatterla. (Piacenza tip. Porta 1903. 8 p. 8 Fig.)
- Hecke, Ludwig**, Ueber das Auftreten von Plasmopara cubensis in Oesterreich. (Ann. Mycologici. Vol. II. 1904. N. 4. p. 355—358.)
- Katayama, T.**, On the general occurrence of Bacillus methylicus. (Bull. Coll. Agr. Tokyo. Vol. VI. 1904. p. 191.)
- Luzzani, Lina**, Nachweisung des spezifischen Parasiten in einem Falle von Tollwut beim Menschen. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXVI. 1904. N. 4. p. 540—545. 1 Taf.)
- Maassen, Albert**, Die teratologischen Wuchsformen (Involutionenformen) der Bakterien und ihre Bedeutung als diagnostisches Hilfsmittel. (Arb. a. d. k. Gesundheitsamte. Bd. XXI. 1904. Heft 3. p. 385—402. 6 Taf.)
- Mc Alpine, D.**, Some misconceptions concerning the Uredospores of Puccinia pruni Pers. (Ann. Mycologici. Vol. II. 1904. N. 4. p. 344—347.)
- , Note on the arrangement of Teleutospores in Puccinia pruni Pers. (Ann. Mycologici. Vol. II. 1904. N. 4. p. 348.)
- Maublanc**, Espèces nouvelles de champignons inférieurs. (Bull. soc. mycol. France. T. XX. 1904. p. 70—75.)
- Massarelli, Giuseppe**, Intorno al parassitismo delle Strongylidae nei polmoni di alcuni mammiferi. 1. Lo Strongylus pusillus Müll. nei polmoni del gatto domestico. (Atti soc. Ital. sc. nat. e Museo civ. st. nat. Milano. Vol. XLII. 1903. Fasc. 3.)
- Mingazzini, Pio**, Ricerche sul vario modo di fissazione delle tenie alla parete intestinale e sul loro assorbimento. (Ricerche Laborat. Anat. norm. Univ. Roma. Vol. X. (1903.) Fasc. 1. p. 5—24. ersch. 1904.)
- Noè, Giovanni**, Studio sul ciclo evolutivo della Filaria labiato-papillosa, Alessandrini: nota prelim. (Atti Accad. Lincei (Rendiconti) Cl. fis., mat. e nat. Anno CCC. Ser. 5. Sem. 2. Vol. XII. 1903. Fasc. 9. p. 387—393.)
- , Ulteriori studi sulla Filaria immitis Leidy: nota prelim. (Atti Accad. Lincei

- (Rendiconti) Cl. fis., mat. e nat. Anno CCC. Ser. 5. Sem. 2. Vol. XII, 1903. Fasc. 10. p. 476—483.)
- Ottolenghi, D.**, Sulla fine struttura di Bacillo del carbonchio. (Atti d. R. Accad. dei Fisiocritici di Siena. Ser. 4. Vol. XV. Disp. 1/6.)
- Oudemans, C. A. J. A.**, Puccinia veratri. (Ann. Mycologici. Vol. II. 1904. N. 4. p. 358.)
- Penal, R.**, Les filaires du sang de l'homme. Thèse de Paris 1904. 8°.
- Pieri, Gino**, Nuove ricerche sul modo in cui avviene l'infezione de anchilostoma. (Atti Accad. Lincei (Rendiconti) Cl. fis., mat. e nat. Anno CCC. Ser. 5. Sem. 2. Vol. XII. 1903. Fasc. 9. p. 393—397.)
- Ragassi, Vincenzo**, Sulla presenza dell' Ascaris mystax zeder nell' uomo. (Ann. Med. navale. Anno IX. 1903. Vol. II. Fasc. 5. p. 509—520.)
- Rehm, H.**, Ascomycetes Americae borealis. (Ann. Mycologici. Vol. II. 1904. N. 4. p. 351—354.)
- Saito, K.**, Untersuchungen über die atmosphärischen Pilzkeime. (Journ. of the College of Sc. Tokyo. Vol. XVIII. Article 5. 58 p. 5 Taf.) 3 M.
- Sawamura, S.**, On the microbes of Nukamiso. (Bull. Coll. Agr. Tokyo. Vol. VI. 1904. No. 2.)
- Soulié, H.**, Sur une Hémogrégarine de Psammodromus algerus. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXIX. 1904. N. 5. p. 371—373.)
- Stempell, W.**, Ueber Nosema anomalum Monz. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. IV. 1904. Heft 1. p. 1—42. 3 Taf.)
- Sydow, H. und P.**, Neue und kritische Uredineen. III. (Ann. Mycologici. Vol. II. 1904. N. 4. p. 349—351.)
- Tiraboschi, Carlo**, Sulla Sarcopsylla gallinacea Westw. (Boll. Naturalista. Anno XXIII. 1903. N. 5/6. p. 66.)
- Trotter, A.**, Intorno all' Uromyces giganteus Speg. (Ann. Mycologici. Vol. II. 1904. N. 4. p. 359—360. 2 Fig.)
- Vast, A.**, A propos de la culture d'Oospora destructor. (Bull. soc. mycol. France. 20. 1904. p. 66—70.)
- Ward, H. M.**, On the histology of Uredo dispersa and the Mycoplasm-hypothesis. (Philosoph. Trans. of the R. Soc. London. Ser. B. Biol. Papers. Vol. CXCVI. 1904.)
- Will, H.**, Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. 6. Wachstumsform der vier Hefen auf festen Nährböden. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 32. p. 576—579.)
- Woodcock, H. M.**, Notes on Sporozoa. 1. On klossiella muris gen. et spec. nov., Smith a. Johns. 1902. (Quart. Journ. of Microsc. Sc. N. S. N. 189 (Vol. XLVIII. P. 1). p. 153—163.)

Biologie.

(Gärung, Stoffwechselprodukte etc.)

- v. Bandrowski, Franz R.**, Ueber den Einfluß des Bauerschen Extraktes auf die Gärkraft der Hefe. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen. Jg. VII. 1904. Heft 7. p. 495—514.)
- Brault, A. et Loeper, M.**, Le glycogène dans le développement de quelques organismes inférieurs (Sporozoaires, coccidies, champignons, levures). (Journ. de Physiol. et de Pathol. gén. T. VI. 1904. N. 4. p. 720—732. 1 Taf.)
- Bubák, Fr.**, Vorläufige Mitteilung über Infektionsversuche mit Uredineen im Jahre 1904. (Ann. Mycologici. Vol. II. 1904. N. 4. p. 361.)
- Elenkin, A.**, Neue Beobachtungen über die Erscheinungen des Endosaprophytismus bei heteromeren Flechten. (Bull. Jard. Impér. bot. 1904. 15 p. [Russisch mit deutschem Auszug.] 2 Taf.)
- Eriksson, J.**, Ueber das vegetative Leben der Getreiderostpilze. Teil 1: Puccinia glumarum. (Schm.) Eriks. et Henn. in der heranwachsenden Weizenpflanze, von J. Eriksson und G. Tischler. Vet. Akad. Handlingar. Stockholm 1904. 19 p. 4°. 3 Taf. 3,50 M.
- Fricker, E.**, Zur Jodreaktion einiger Leptothrixarten der Mundhöhle der Speiseröhre und des Magens. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXVI. 1904. N. 4. p. 555—557.)
- Gayon, U. et Dubourg, E.**, Sur la fermentation mannitique. (Ann. de l'inst. Pasteur. (Année XVIII. 1904. N. 6. p. 385—386.)
- Hinsberg, O. und Roos, E.**, Nachtrag zu der Abhandlung über einige Bestandteile der Hefe. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. XLII. 1904. Heft 3. p. 189—192.)

- Jaccard, P.**, Symbiose et parasitisme. 1. Les Mycorhiza et leur rôle dans la nutrition des essences forestières. (Journ. For. Suisse. Année LV. 1904. p. 21—38.)
- Libman**, Demonstration of cagulum production by growth of bacteria in sugar media. (New York pathol. Soc. T. IV. 1904. N. 1.)
- Maassen, Albert**, Ueber das Reduktionsvermögen der Bakterien und über reduzierende Stoffe in pflanzlichen und tierischen Zellen. (Arb. a. d. k. Gesundheitsamte. Bd. XXI. 1904. Heft 3. p. 377—384.)
- Masé, P.**, Sur l'isolement de la zymase dans les tissus animaux et végétaux. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVIII. 1904. N. 6. p. 378—381.)
- Masé, P. et Perrier, A.**, Sur le rôle des microbes dans la fermentation alcoolique que M. Stoklasa attribue à la zymase isolée des tissus végétaux ou animaux. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVIII. 1904. N. 6. p. 382—384.)
- Pollak, Alfred**, Triebkraftbestimmung der Hefe und Einwirkung von Backhilfsmitteln auf die Teiggärung. [Schluß.] (Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikat. Jg. XXXII. 1904. N. 31. p. 383—385.)
- Salmon, E.**, Recent researches on the specialization of parasitism in the Erysiphaceae. (New Phytol. 1904. p. 55—60. 1 Fig.)
- Smith, Ralph E.**, The Water-Relation of Puccinia asparagi. A Contribution to the biology of a parasitic fungus. (Bot. Gazette. Chicago. Vol. XXXVIII. 1904. N. 1. p. 19—43. 21 Fig.)
- Turró, B.**, Le glucose dans les cultures du pneumocoque. (Journ. de Physiol. et de Pathol. gén. T. VI. 1904. N. 4. p. 718—719.)
- Vitali, D.**, Sei lezioni sulle Fermentazioni microbiche ed enzimiche. Milano 1903. 96 p. 8^o.
- Wender, N. und Lewin, D.**, Studien über die Triebkraft der Hefe. (Oesterr. Brennerei-Ztg. Czernowitz 1904.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

- Cortes, A.**, Microbiologie; vitalité des germes des organismes microscopiques des eaux douces et salées. (Mem. della Pontifica. Accad. dei Nuovi Lincei. Vol. XXI. 1903.)
- Clauditz, H.**, Ein Beitrag zur quantitativen bakteriologischen Wasseruntersuchung. (Hyg. Rundsch. Jg. XIV. N. 14. p. 665—670.)
- Dulley, J.**, Organische Substanz im Wasser. (Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation. Jg. XXXII. 1904. N. 31. p. 377—379. [Country Brewers Gazette 1904. N. 694.])
- Krummacher**, Zum „Streit“ über die chemische Wasseruntersuchung. (Ztschr. f. Medizinalbeamte. Jg. XVII. 1904. N. 16. p. 501—505.)
- Salomon**, Noch ein Beitrag zur Wasseruntersuchungsfrage. (Ztschr. f. Medizinalbeamte. Jg. XVII. 1904. N. 16. p. 505—516.)
- Thomann, J.**, Chemische und bakteriologische Untersuchungen des Trinkwassers der Stadt Bern. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. VIII. 1904. Heft 3. p. 193—196.)

Fleisch.

- Drack, E.**, Die Darmstädter Vergiftung durch Konserven. (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. XXXII. 1904. Heft 29. p. 695—697; Heft 30. p. 717—718.)
- Einiges zur Hygiene der Fleischkonservierung. (Konserven-Ztg. Jg. 1904. N. 32. p. 345—346.)
- Franke, M.**, Die Sterilisation von Fleisch, welches durch Milzbrandkeime verunreinigt ist. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1904. Heft 11. p. 380—382.)
- Pelsl, Otto**, Ueber Botulismus. (Drei geheilte Fälle von Wurstvergiftung.) (Wiener klin. Wchnschr. Jg. XVII. 1904. N. 31. p. 864—870. 1 Fig.)

Wein, Weinbereitung.

- Arthold, M.**, Was ist von den Mitteln zur Reblausvertilgung zu halten? (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXI. 1904. N. 31. p. 307—308.)
- Delle, E.**, Le traitement des vins par l'acide sulfureux et les sulfites. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 61. p. 242.)
- Desmoulins, A. M.**, Amélioration de la couleur des vins. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 58. p. 229—230.)
- , Amélioration de la couleur des vins. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 60. p. 237—238.)

Kerp, W., Ueber die schweflige Säure im Wein. 1. Abhandlung: Allgemeines über die schweflige Säure im Wein. 2. Abhandlung: Ueber die aldehydschweflige Säure im Wein. (Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte. Bd. XXI. 1904. Heft 2. p. 141—179.)

Plot, E., La stérilisation des mouts et les levures sélectionnées. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 59. p. 234.)

Roetgen, Theod., Das Schönen des Weines. (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. XVI. 1904. N. 7. 101—103.)

Bier, Brauerei.

Holzhäuser, B., Ueber Malz mit kürzerem Blattkeim und das daraus bereitete Bier. (Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikat. Jg. XXXII. N. 32. p. 391—393.)

Lintner, Ueber den Maischprozeß. [Schluß.] (Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikat. Jg. XXXII. 1904. N. 31. p. 379—383.)

de Fine-Bunkeflod, E. und Luff, G., Die Infektion im Gärkeller. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 32. p. 573—576.)

Wahl, B. and Henius, M., American Handy Book of the Brewing, Malting and Auxillary Trades. 2. edition. Chicago 1904. 1266 p. 8°. 50 M.

Will, H. und Braun, E., Vergleichende Untersuchung einiger in den letzten Jahren für den Brauereibetrieb empfohlener Desinfektionsmittel. [Schluß.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 31. p. 553—557.)

Andere Nahrungsmittel.

Müller, M., Welche Maßregeln sind zur Erweiterung des Fischhandels und zur Steigerung des Fischkonsumes nötig. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1904. Heft 11. p. 367—372.)

Schmidt, H., Ueber das Vorkommen der schwefligen Säure in Dörrobst und einigen anderen Lebensmitteln. (Arb. a. d. k. Gesundheitsamte. Bd. XXI. 1904. Heft 2. p. 226—284.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

Balestre et Camous, La désinfection urbaine. (Ann. d'hyg. publ. et de méd. légale. Sér. 4. T. I. 1904. p. 154—165.)

Bredtschneider, A. und Thumm, K., Die Abwasserreinigung in England, dargestellt auf Grund einer in der Zeit vom 23. 1. bis 15. 2. 1903 ausgeführten Besichtigungsreise. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasserversorgung und Abwasserbeseitigung zu Berlin. 1904. Heft 3. XII, 253 p.) 46 photolith. Taf. 12 M.

Hagemann, Beitrag zur Methodik der Prüfung von Desinfektionsmitteln. (Ztschr. f. Medizinalbeamte. Jg. XVII. 1904. N. 15. p. 471—473.)

Kausch, Neuerungen auf dem Gebiete der Desinfektion und Sterilisation. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXV. 1904. N. 7/9. p. 209—226; N. 10/11. p. 306—312. 29 Fig.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Anastasia, E., Animali e Insetti nocivi al tabacco. (Boll. tecnico della Cultivazione dei Tabacchi. Anno III. 1904. N. 1.)

A Parasite of the Bee (*Meloe violaceus*). (Journ. of the Board of Agric. Vol. XI. 1904. N. 4. p. 245—246.)

Appel, Ueber bestandweises Absterben von Roterlen. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwesen. Jg. II. 1904. Heft 8. p. 313—320. 3 Fig.)

Arthur, J. C., The Aecidium of maize rust. (Bot. Gazette. Chicago. Vol. XXXVIII. 1904. N. 1. p. 64—67.)

Audisio, E., Pourquoi les invasions de la *Cochylis* sont intermittentes. (La vigne Américaine. Macon. Année XXVIII. 1904. N. 7. p. 216—219.)

Bibliografia relativa a los Insectos que destruyen las cortezas. (Bol. de la Comision de Parasitologia Agrícola, red. per A. L. Herrera. T. II. N. 3. Mexico 1903.)

Bouygues et Perreau, Contribution à l'étude de la nielle des feuilles de tabac. (Journ. d'agric. prat. Année LXVIII. 1904. N. 31. p. 152.)

— —, Contribution à l'étude de la nielle des feuilles de tabac. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXIX. 1904. N. 4. p. 309—310.)

Comision de Parasitologia Agrícola. Circular no. 5. (Estudio experimental del acido cianhidrico como insecticida). Mexico 1904. 9 p. 8°. —, 50 M.

- Coral-Spot Disease. (Journ. of the Board of agric. London. Vol. XI. 1904. N. 4. p. 202—203. 1 Taf.)
- Der Reblausüberwachungsdienst in Tirol im Jahre 1901. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXI. 1904. N. 31. p. 308—309.)
- Fungus on Fruit Trees (*Botrytis cinerea*). (Journ. of the Board of Agric. Vol. XI. 1904. N. 4. p. 242.)
- Jatschewskij, A.**, Die Pilzkrankheiten der nützlichen wildwachsenden und der Kulturpflanzen. Lief. 7. St. Petersburg. 1904. M. Fig. (Russisch.) 6 M.
- Johnson, T.**, Willow Canker i *Physalospora* (*Botryosphaeria*) *gregaria* Sacc. Sc. Proc. R. Dublin Soc. 1904. 14 p. 3 Taf. 1,20 M.
- Kawakami, T.** and **Miyabe, K.**, On a parasitic fungus injurious to *Cyperus tegetifolius* Roxb. (Bot. Mag. Tokyo 1903. p. 305—308. [Japan.].)

Inhalt.

Originalreferate aus bakteriolog. und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Aus dem Institut für Gärungsgewerbe, Berlin.

Henneberg, W., Studien über das Verhalten einiger Kulturheferassen bei verschiedenen Temperaturen. Ein Beitrag zur Enzymtätigkeit, zur Lebensdauer, Haltbarkeit und zum Absterben der Hefen, p. 97.

Referate.

Baudouin, M., Histologie et bactériologie des boues extraites à 10 m de profondeur d'un puits funéraire gallo-romain à la Nécropole du Bernard (Vendée), p. 112.

Bernard, Noël, Le champignon endophyte des Orchidées, p. 113.

Beythien, Hempel und Kraft, Beiträge zur Kenntnis des Vorkommens von *Crenothrix polyspora* in Brunnenwässern, p. 106.

Bolle, Johann, Ueber die im Jahre 1903 im Küstenlande beobachteten Pflanzenkrankheiten, p. 114.

Denkschrift, fünfundzwanzigste, betreffend die Bekämpfung der Reblauskrankheit 1902 und 1903 (bis 1. Oktober), p. 115.

Diedicke, H., Die Aecidien der *Puccinia Stipae* (Op.) Hora, p. 113.

Fascetti, G., Sopra l'impiego delle culture liquide dei fermenti lattici, nell'acidificazione della crema, p. 109.

—, Esperienze sulla fabbricazione del formaggio con latte pastorizzato, p. 109.

Harden, A. und Young, W. J., Gärversuche mit Preßsaft aus obergäriger Hefe, p. 108.

Houard, C., Caractères morphologiques des *Aérocécidies caulinaires*, p. 121.

Jalowetz, E., Streifzüge durch das Gebiet der Gärungsindustrie, p. 107.

Kieffer, J. J., Monographie des *Cynipides d'Europe et d'Algérie*, p. 121.

Klöcker, A., Une espèce nouvelle de *Saccharomyces*: *Sacch. Saturnus* Klöcker, ayant des spores caractéristiques, p. 107.

Koch, Alfred, Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen, p. 105.

—, Bodenbakterien und Stickstofffrage, p. 110.

Kossowicz, Alex., Beobachtungen über die Farbstoffbildung einiger Bakterien in gezuckerten Mineralsalz - Nährlösungen, p. 105.

Meissner, Richard, Die Obstweinbereitung, p. 108.

Nilson, A., Wodurch wird das unlösliche Eiweiß in Gerste und Malz während des Wachsens und Maischens löslich gemacht?, p. 112.

Salfeld, Bodenimpfung bei der Hochmoorkultur, p. 111.

Schiöning, H., Nouveau genre de la famille des *Saccharomycètes*, p. 107.

Welbel, Beiträge zum Studium des Lysimeterwassers und der Nitrifikation des Bodenstickstoffs, p. 109.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Hausmann, Walther, Zur Kenntnis des biologischen Arsennachweises, p. 122.

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Volkart, A., Pflanzenschutz, p. 123.

Neue Litteratur, p. 123.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädensweil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof.
Dr. Statzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr.
Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XIII. Band.

Jena, den 7. Oktober 1904.

No. 5/7.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Ueber Aenderungen der Farben bei Pilzen und Bakterien.

Von **Thomas Milburn.**

Mit 2 Tafeln und 6 Figuren im Text.

Einleitung.

Die Erzeugung und der Wechsel der Farbstoffe der Bakterien ist eine Frage, der man in der letzten Zeit große Aufmerksamkeit gewidmet hat. Obgleich diese Farbstoffe keine praktische Verwendung finden, bieten sie doch dem Physiologen viel Interessantes.

Als Beispiel der farbwechselnden Bakterien mögen folgende genannt sein:

Zweite Abt. Bd. XIII.

9

*Bacillus prodigiosus*¹⁾, bildet seine rote Farbe nur auf saurem Nährboden, auf neutralem wächst er farblos; farblose Formen erhält man auch, wenn man die Kultur dem Lichte aussetzt, oder durch Züchtung bei einer Temperatur von 37°.

*Bac. Kiliensis*²⁾, wächst auf Kartoffeln, zuerst ziegelrot, später dunkelrot und auf neutralem Nähragar gelbrot.

*Bac. beroliniensis*³⁾, wächst auf Kartoffeln rosarot, auf neutralem Nähragar gelb.

*Bac. cyanogenus*⁴⁾, bildet sein Blau nur bei saurem Boden; auf alkalischem Nährboden bildet er eine schmutzig grau fluoreszierende, auf Kartoffeln eine gelbe Farbe.

Bei den Pilzen sind ebenfalls zahlreiche farbstoffproduzierende und farbwechselnde Formen bekannt, doch hat man bisher die Bedingungen ihrer Bildung nicht genügend studiert.

Zopf⁵⁾ erwähnt den Farbstoffwechsel verschiedener Basidiomycetensporen. Schrenk ferner fand, daß der Pilz, der die blaue Farbe im Fichtenholz verursacht, im Alter eine andere Farbe annimmt. Auch gewisse Arten von *Fusarium* erzeugen einen veränderlichen Farbstoff. Allgemein bekannt ist ferner der Farbenwechsel bei gewissen *Russula*-Arten. Tulasne⁶⁾ schließlich weist auf die Tatsache hin, daß *Hypocrea rufa* oft Flecken von gelben Konidien unter der Hauptmasse der grünen bildet.

Als meine Aufgabe habe ich es betrachtet, die hier angedeutete Lücke unserer Kenntnisse einigermaßen auszufüllen und wenigstens bei einigen Formen den Einfluß äußerer Bedingungen auf die Produktion von Farbstoff und auf den Farbenwechsel zu erforschen. Als geeignete Versuchsobjekte erwiesen sich *Hypocrea rufa*, *Hypocrea gelatinosa* und *Aspergillus niger*, von den Bakterien *Bacillus ruber balticus*.

Ueber die von mir aufgestellten Versuchsreihen mag die nachfolgende Inhaltsübersicht vorläufigen Aufschluß geben:

A. *Hypocrea rufa*.

Teil I. Einfluß:

1. der chemischen Zusammensetzung des Mediums,
2. des osmotischen Druckes,
3. des Wachstums von *Hypocrea rufa* auf die Reaktion des Mediums,
4. der Reaktion des Mediums auf die Farbe der Fruktifikation,
5. anderer Bedingungen:
 - a) Sauerstoff,
 - b) Licht und Feuchtigkeit,
 - c) Temperatur.

Teil II.

1. Ausscheidung von Wasser. Quantitative Bestimmungen von Säure und Alkalien.
2. Löslichkeit des Farbstoffes.

1—4) Migula, System der Bakterien. Bd. II. p. 845.

5) Zopf, Die Pilze. 1890. p. 163.

6) Tulasne, Fungorum carpologia. Paris 1865.

- B. *Hypocrea gelatinosa*?
 - 1. Allgemeine Bemerkungen.
 - 2. Vergleichen mit *Hypocrea rufa*.
- C. *Aspergillus niger*.
 - 1. Einfluß äußerer Bedingungen auf die Bildung des gelben Farbstoffes.
 - 2. Vergleiche und Unterschiede des schwarzen und des gelben Farbstoffes.
- D. *Bacillus ruber balticus*.
 - 1. Allgemeine Bemerkungen.
 - 2. Einfluß der Zusammensetzung und Reaktion des Mediums auf den Farbstoff.
 - 3. Wirkung von Säuren und Alkalien auf die Farbstofflösung.

A. Beschreibung von *Hypocrea rufa* und allgemeine Bemerkungen.

Hypocrea rufa, s. Rabenhorst, Kryptogamenflora. 1, 2. p. 134. Engler, Natürliche Pflanzenfamilien. Teil I. Abt. I. 1897. p. 364. Tulasne, Fung. carp. T. III. Paris 1865. p. 30.

Auch als Fungus conidiophorus:

Pyrenium lignorum, Todeo. Fu. Mek. sel. Parte I. p. 33.

Mucor lignifragus, Bull. F. Gallilae. T. I. p. 103.

Trichoderma viride, Pers. Disp. Meth. Fung. p. 12.

Botrytis lignifraga, Candolle's Fl. Gall. T. II. p. 70.

Trichoderma aeruginosum, Personi Champ. comest. p. 132.

Als Fungus perfectior ascophorus:

Sphaeria rufa, Per. Obs. Myc. T. I. p. 20.

Hypocrea rufa, Fr. S. Veg. Sc. p. 383.

Cyttaria rufa, Bon. libro sup. p. 166.

Die Gattung *Hypocrea* ist weit verbreitet und findet sich als Saprophyt auf verfaultem Holze und verfaulenden Blättern. Ausgezeichnete Abbildungen von *Hypocrea rufa* findet man bei Tulasne (s. o., Taf. III). Ich fand die Konidienformen auf verfaultem Holze in einem Walde nahe bei Halle.

Auf Anraten des Herrn Prof. Dr. Klebs machte ich einige Impfungen auf verschiedenen Nährböden. Um mit der Ascusfruktifikation des Pilzes bekannt zu werden, kultivierte ich ihn auf verschiedenen Nährböden und unter verschiedenen Bedingungen, aber alle Versuche schlugen fehl. Später sandte ich ihn an Herrn Prof. Dr. v. Höhnelt, der ihn als *Hypocrea rufa* erkannte. Für seine freundlichen Bemühungen erlaube ich mir Herrn Prof. v. Höhnelt an dieser Stelle meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Für das unbewaffnete Auge ist das Mycelium, wenn es auf Holz wächst, nicht erkennbar, wohl aber fallen sofort die Massen von Konidien als ansehnliche Köpfchen auf. Auf Agar gezüchtet, welcher mit Stengeln von *Vicia Faba* oder *Rubus* sterilisiert wurde, wächst der Pilz in ganz gleicher Form. Auf den meisten anderen künstlichen Böden wächst das Mycelium in Form eines Filzes und die Konidien bilden statt der Köpfchen ausgebreitete Lager. In Tropfenkulturen läßt sich Keimung und Entwicklung

9*

des Pilzes leicht verfolgen: Die Spore schwillt etwas an und wächst schließlich zu dem Keimschlauch aus (s. Fig. 1); das junge Mycel, dessen weitere Entwicklung sich auf Plattenkulturen studieren läßt, verzweigt sich wiederholt und bildet, nach ungefähr 3 Tagen, Luftfäden aus. Diese Luftfäden verzweigen sich ebenfalls und erzeugen an ihrem Ende die charakteristischen hakenförmigen Sterigmata, an deren Spitze sich die Sporen bilden. Diese entstehen in Gruppen und werden durch eine klebrige Substanz zu-

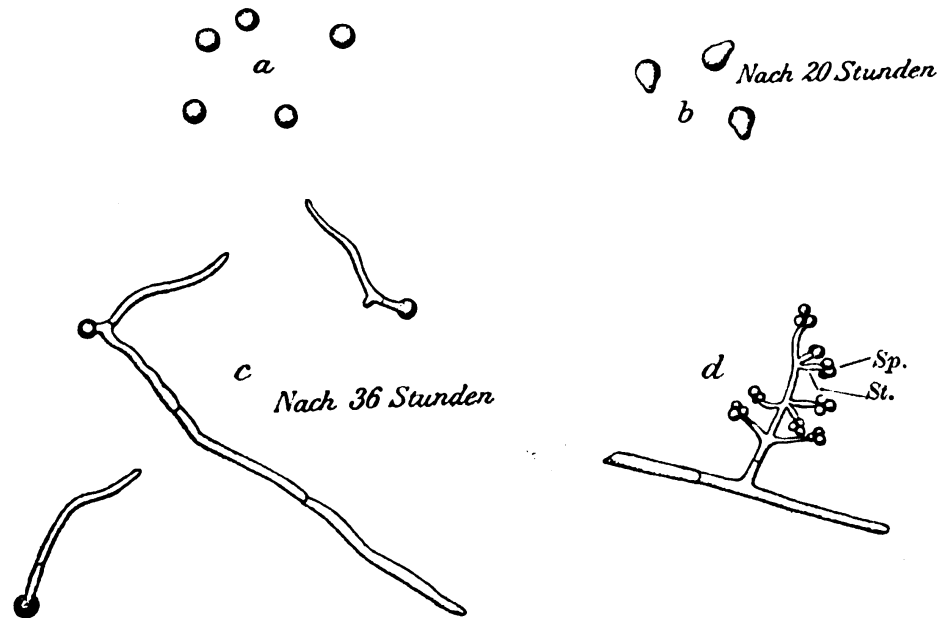


Fig. 1a—d. *Hypocrea rufa*. a Sporen $\times 886$; b und c zeigt Keimung der Sporen in Pflaumensaftlösung; b nach 20 und c nach 36 Stunden $\times 620$; d Stück eines Myceliums. st Sterigma, sp Sporen.

sammengehalten, die im Wasser aufquillt und die Sporen mit beträchtlicher Kraft fortschleudert. In den größeren Kulturen erscheint die grüne Farbe der Konidien zuerst nach 5—7 Tagen, je nach der Temperatur.

Bevor ich weiter gehe, muß ich ausdrücklich betonen, daß die Farbe bei *Hypocrea rufa* und *Hypocrea gelatinosa* kein Exkretprodukt, wie bei dem Farbstoffe der Bakterien ist, und sich auch nicht in dem Mycelium selbst befindet, wie dies der Fall bei *Helotium* und *Fusarium*, sondern nur in den Konidien selbst.

Nachdem ich bei mehreren Kulturen die Wahrnehmung gemacht hatte, daß *Hypocrea rufa* dazu neigte, gelbe Konidien zu bilden, schien dieser Pilz mir ein geeignetes Objekt für das Studium der Bedingungen, unter welchen die Farbe sich ändert.

Teil I.

1. Einfluß der chemischen Zusammensetzung des Mediums.

Da die erwähnte Farbenveränderung unseres Pilzes unzweifelhaft nicht eine „zufällige“ Erscheinung ist, sondern verursacht wird durch irgendwelche äußere Lebensbedingungen, lag es nahe, zunächst den Einfluß des Substrates zu prüfen, d. h. zu ermitteln, ob die Farbe des Pilzes in irgend einer Weise durch einen Wechsel in der Zusammensetzung des Mediums verändert werden kann. Es zeigt sich in der Tat, daß dem Nährboden eine weitgehende Bedeutung für die Farbstoffbildung zukommt, da durch Anwendung verschiedenartiger Nährböden Gelb und Grün nach Belieben erzeugt werden konnte.

Nachfolgende Tabellen veranschaulichen einige der Versuche, welche mich mit dem Einfluß des Nährsubstrates auf die Farbstoffbildung bekannt machten. Zunächst (Tabelle 1) wurde der Einfluß von einem Zusatz von Knops Nährlösung geprüft.

Tabelle 1.
Versuche mit Pflaumensaft, Glukose und Knop.

No.	Nährboden				Bemerkungen
1	Agar + Pflaumensaft 40,00 Proz. ¹⁾				Fruktifikation grün
2	„	+	„	+ Knop 0,25 „	} Gänzlich grüne ausgezeichnete Fruktifikation (s. kol. Taf. A von No. 3)
3	„	+	„	+ „ 0,50 „	
4	„	+	„	+ „ 1,00 „	
5	„	+	„	+ „ 2,00 „	
6	„	+	Traubenzucker	+ „ 5,00 „	Fruktifikation schwach grün
7	„	+	„	+ „ 0,25 „	} Fruktifikation gänzlich grün, nicht so gut wie bei 1—5
8	„	+	„	+ „ 0,50 „	
9	„	+	„	+ „ 1,00 „	
10	„	+	„	+ „ 2,00 „	

Die Tabelle 1 zeigt, daß durch Zusatz von Knops Minerallösung in verschiedenen Konzentrationen in jedem Falle die Bildung von Konidien gefördert wird, und daß die organischen Salze ganz allgemein der Bildung des grünen Farbstoffes günstig sind.

Tabelle 2 macht weitere Nährsubstrate — Traubenzucker, Weinsteinsäure — bekannt, unter deren Einfluß ebenfalls nur grüne Farbe von dem Pilz produziert werden kann. Einige der Resultate werden später (Kap. IV) noch eingehender zu diskutieren sein.

1) Die hierbei benutzten verschiedenen Pflaumensaftlösungen wurden in der Weise gemacht, daß getrocknete Pflaumen in Wasser (1 Pfd.: 1 l) 12 Stunden lang aufgeweicht wurden, die Lösung durch ein Tuch und durch Baumwolle filtriert und nachher konzentriert wurde. Spez. Gew. 1,06—1,08. Wo nichts anderes angegeben, standen die Kulturen bei 16—20° C.

Tabelle 2.
Versuche mit Traubenzucker resp. Weinsteinsäure.

No.	Nährboden				Bemerkungen
1	Agar + Pflaumensaft 40,0 Proz.				Grüne Fruktifikation
2	"	+	"	+ Traubenzucker 1,0 "	} Konidienbildung etwas unterdrückt, kein Gelb
3	"	+	"	" 2,0 "	
4	"	+	"	" 5,0 "	
5	"	+	"	+ Weinsteinsäure 0,2 "	} Dunkelgrün, kein Gelb
6	"	+	"	" 0,5 "	

Man beachte bei Fig. 2b, daß die fruktifizierenden Teile nicht in Ringen angeordnet erscheinen; die zugesetzte Säure hat den Agar halbflüssig gemacht und das Wachstum ist dasselbe wie auf flüssigen Nährböden (vergl. Fig. 2a u. b).

Einen wichtigen Fortschritt brachten die in Tabelle 3—4 angeführten Versuche, durch welche geprüft werden sollte, ob Stickstoff oder Phosphat irgend einen Einfluß auf die Farbe ausübten.

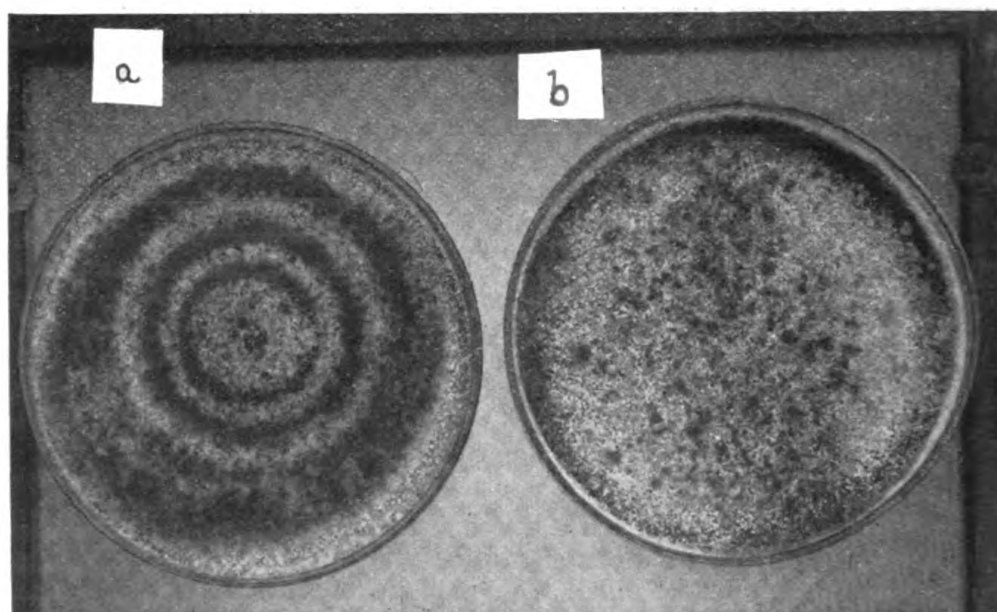


Fig. 2a u. b. *Hypocrea rufa*. a Kultur auf Pflanzensaftagar; b gleiche Kultur mit Zusatz von 0,23 Proz. Weinsäure. a mit deutlicher Zonenbildung; b wegen Verflüssigung des Nährbodens gleichmäßige Verteilung der Konidienbildung.

(Siehe Tabelle 3 p. 135.)

Nach diesem Versuche schien ein Substrat, das Nitrat oder Phosphat in reichlicher Menge enthält, die Produktion des gelben Farbstoffes zu fördern. In Versuchen mit anderen Phosphaten und Nitraten trat aber nur die grüne Farbe auf.

Weiterhin (Tabelle 4) wurde die Wirkung von verschiedenen

Tabelle 3.
Versuche mit Zusatz von Nitrat bzw. Phosphat.

No.	Nährboden	Bemerkungen
1	Agar + Pflaumensaft	40,0 Proz. Fruktifikation grün
2	" + " + Ammoniumnitrat	0,5 " } Ausgezeichnetes Wachstum, Fruktifikation
3	" + " + " "	1,0 " } geringer und gemischt, gelb und grün
4	" + " + Kaliumnitrat	0,5 " }
5	" + " + " "	1,0 " }
6	" + " + Ammoniumbikalium	0,5 " }
7	" + " + " "	1,0 " }
8	" + " + Trikaliumphosphat	1,0 " }
9	" + " + " "	2,0 " }
10	" + " + Dikaliumphosphat	1,0 " }
11	" + " + " "	2,0 " } Fruktifikation besser als 2—7 und mehr gelb
12	" + " + Monokaliumphosphat	1,0 " }
13	" + " + " "	2,0 " }

Amid- und Proteinsubstanzen untersucht. Als Substratbasis wurde wieder Agar + 40 Proz. Pflaumensaft mit Zusatz von je 2 Proz. zu den folgenden Substanzen angewandt:

Tabelle 4.
Prüfung des Einflusses von Stickstoffverbindungen auf die Farbe der Konidien.

No.	Zusatz	Bemerkungen
1	Tyrosin	} Wachstum gut, Fruktifikation gemischt schmutzig grün und grauweiß
2	Asparagin	
3	Leucin	
4	Acetamid	} Wenig Wachstum, keine Fruktifikation
5	Oxamid	
6	Kreatin	} Gutes Wachstum, Fruktifikation gemischt grün und gelb
7	Legumin	
8	Albumin	
9	Kasein	
10	Blutserum	} Ausgezeichnetes Wachstum, Fruktifikation ganz gelb
11	Nuklein	
12	Fleischextrakt	
13	Pepton (Mercks ex Carne)	

Die bisher geschilderten Ergebnisse haben bewiesen, daß es in der Tat gelingt, durch geeignete Wahl von Nährmaterialien die Bildung des gelben Farbstoffes beträchtlich zu fördern; sogar fast vollständig gelbe Kulturen ließen sich bei No. 11, 12 und 13 erreichen.

Da nun die Anwendung von Pflaumensaft bei verschiedenen Versuchsreihen ungleiche Resultate gab¹⁾, wurde es notwendig, einen Nährboden ausfindig zu machen, dessen Zusammensetzung genau bekannt war und völlig konstant blieb, damit, wenn möglich, auf ihm der Pilz mit ausnahmslos gelben Konidien sich erzielen ließ.

1) Der Grund lag darin, wie sich später zeigte, daß die verschiedenen Zubereitungen von Pflaumensaft wechselnde Mengen von Säuren enthielten.

Da die verschiedenen in Tabelle 4 genannten Verbindungen im ganzen ein für die Produktion des gelben Farbstoffes günstiges Resultat ergeben hatten, wurden weitere Versuche mit Agar und 5 Proz. Traubenzucker statt des Pflaumensaftes als Substratbasis mit einem Zusatz von je 2 Proz. der folgenden Substanzen angestellt:

Tabelle 5.
Weitere Versuche mit Stickstoffverbindungen.

No.	Zusatz	Bemerkungen
1	Ohne Zusatz (Kontrollversuche)	Fruktifikation grün
2	Tyrosin	Fruktifikation in konzentrischen Kreisen (siehe Fig. 3a u. b).
3	Asparagin	
4	Leucin	Gutes Wachstum, Ringe schlecht abgegrenzt. Fruktifikation grün und gelblich-weiß (siehe Fig. 3c u. d).
5	Albumin	
6	Alcumin	Gutes Wachstum, Fruktifikation mäßig, Farbe gemischt grün und gelb
7	Nukleïn	
8	Pepton	

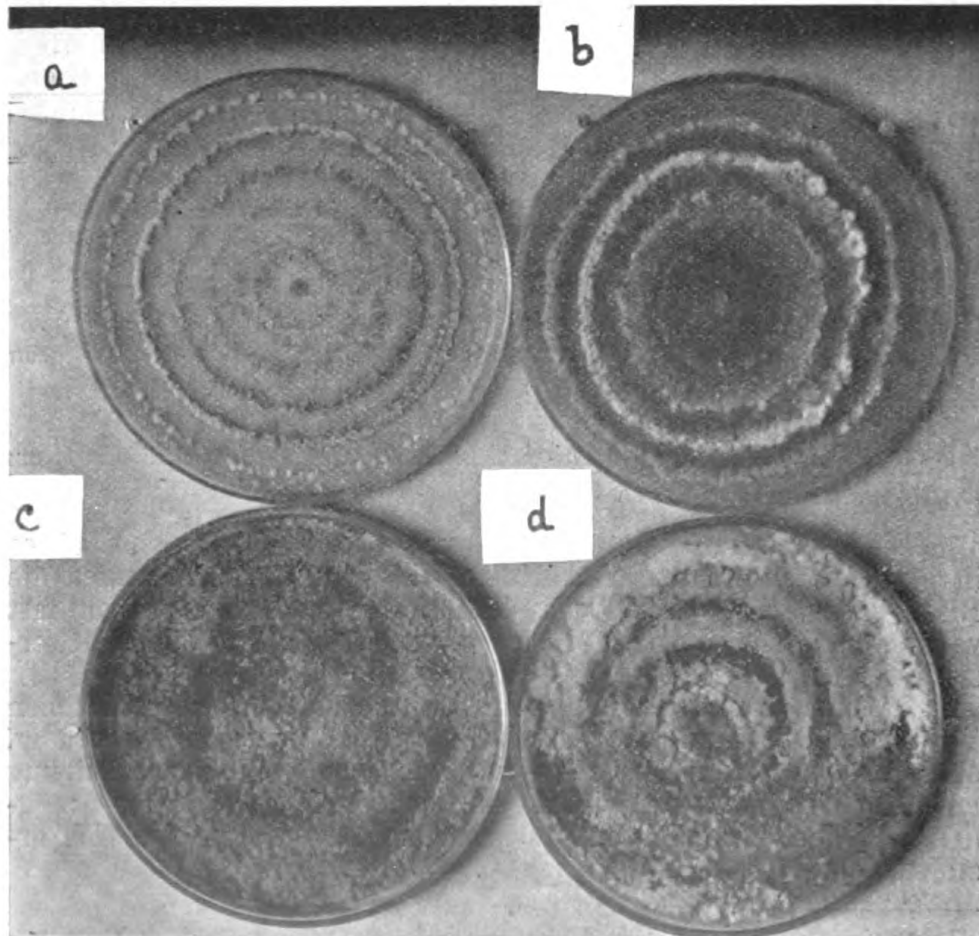


Fig. 3a—d. *Hypocrea rufa*. Form des Wachstums auf Stickstoffverbindungen und 5 Proz. Glukose. a mit 2 Proz. Tyrosin, b mit 2 Proz. Asparagin, c mit 2 Proz. Leucin, d mit 2 Proz. Acetamid.

Obgleich es bisher nicht gelungen war, ein vollständiges Gelb zu erreichen, so war es doch klar, daß die besondere Zusammensetzung des Mediums, auf welchem der Pilz wächst, in irgend einer Weise die Farbe der Konidien bestimmt.

Gelegentlich machte ich einige Kulturen mit Agar und 2 Proz. Pepton als Nährboden, auf welchem rasches Wachstum erfolgte, aber die Fruktifikation ausblieb¹⁾. Es erschien wahrscheinlich, daß sich der Pilz unter Beibehaltung des Peptons als Nährmaterial durch Zusatz irgend einer weiteren Substanz zur Fruktifikation würde bringen lassen.

Mit Rücksicht darauf, daß bei früheren Versuchen (Tab. 1) der Zusatz von Knops Nährlösung die Konidienbildung beträchtlich gefördert hatte, wurden folgende Zusätze zu dem Agarpeptonnährboden geprüft.

Tabelle 6.
Versuche mit Pepton und Knop.

No.	Nährboden						Bemerkungen
1	Agar	+	Pepton	2 Proz.	+	Knop 0,25 Proz.	{ Fruktifikation schmutzig-gelbe Farbe
2	"	+	"	2	"	0,50	{ Fruktifikation schön gelb (s. kol. Taf. C)
3	"	+	"	2	"	1,00	
4	"	+	"	2	"	1,50	
5	"	+	"	2	"	2,00	{ Fruktifikation gelb, mit Spuren von Grün
6	"	+	"	Kontrollversuch			{ keine Fruktifikation

Damit war, wie die Tabelle zeigt, ein Nährboden gefunden, auf welchem rein gelbe Kulturen sich erzielen lassen. Eine Erklärung für dieses interessante Resultat wird in den Kapiteln 4 und 6 versucht werden.

Wir werden später bei Behandlung des Einflusses von Licht und Dunkelheit zu konstatieren haben, daß mit Peptonnährböden auch bei Ausschluß des Lichtes sich rein gelbe Kulturen erzielen lassen, allerdings nur bei hinreichender Herabsetzung des Pepton- und Nährsalzgehaltes. Es hat also nicht nur die Qualität des Nährbodens, sondern auch seine prozentuale Zusammensetzung weitgehenden Einfluß auf die Farbbildung.

Im Licht veranlaßt eine Verringerung der Konzentration etwa auf 0,15 Proz. Pepton und 0,037 Proz. Knop die Bildung des grünen Farbstoffes. Schließlich mag noch erwähnt werden, daß rein gelbe Kulturen sich auch auf Kartoffel und Mohrrüben erzielen lassen. Für die Erforschung der für die Farbstoffbildung maßgebenden Bedingungen sind diese Versuche freilich von nur geringer Bedeutung, weil wir nicht wissen, welche von den in der Kartoffel und der Rübe enthaltenen Stoffe für die Pigmentbildung den Ausschlag gegeben haben.

1) Dies hatte, wie ich später fand, darin seinen Grund, daß der Boden zu alkalisch war; eine gelbe Fruktifikation wurde später dadurch erzielt, daß der Peptongehalt auf 1 Proz. herabgesetzt wurde.

2. Einfluß des osmotischen Druckes.

Hochkonzentrierte Nährböden wirken bekanntlich vielfach schädigend auf Leben und Wachstum der Organismen. Unvermittelte Zunahme der Konzentration verursacht oft auffällige formative oder andere Veränderungen bei den Lebewesen. Steigt die Konzentration des Nährbodens allmählich, so kann unter Umständen eine Anpassung der Organismen an die Umgebung erfolgen und bemerkenswerte Veränderungen ihrer Eigenschaften herbeiführen ¹⁾.

Die Wirkung höherer Konzentrationen auf das Wachstum u. s. w. von *Hypocrea rufa* erläutern folgende Tabellen, denen Versuche mit Agar und 40 Proz. Pflaumensaft unter Zusatz von Traubenzucker zu Grunde liegen.

Tabelle 7.
Versuche mit hohen Konzentrationen von Traubenzucker.

No.	Zusatz	Bemerkungen
1	Traubenzucker 5 Proz.	Fruktifikation hellgrün
2	„ 10 „	„ beinahe gänzlich weiß in 12—15 Tagen
3	„ 15 „	} „ gänzlich weiß in 20—25 Tagen
4	„ 20 „	
5	„ 25 „	} „ sehr unterdrückt, ganz weiß
6	„ 30 „	
7	„ 35 „	} Wachstum langsam, keine Fruktifikation nach 2 Monaten
8	„ 40 „	
9	„ 45 „	„ sehr langsam, gallertartige Masse

Wir sehen daraus, daß durch mäßige Konzentration des Nährbodens (10 Proz.) zunächst die grüne Farbe der noch reichlich entstehenden Konidien unterdrückt wird, daß weiterhin bei 30—35 Proz. die Konidiengruppenbildung selbst nahezu unmöglich gemacht wird, und bei 45 Proz. das Wachstum fast gänzlich aufhört.

Der Versuch wurde mit Chlornatrium statt des Traubenzuckers wiederholt, und zwar mit dem äquivalent osmotischen Drucke, wie in der vorstehenden Tabelle; das Resultat stimmte mit dem der Tabelle 7 überein; das Wachstum war bei Anwendung mittlerer Konzentrationen günstig, aber die köpfchenförmigen Konidiengruppen erschienen vollständig weiß. Ähnliche Kulturen mit gleichen Nährböden wurden bei schwachem Licht gehalten, wobei das Resultat fast dasselbe war wie bei gewöhnlichem Zimmerlicht. Die Bildung der grünen Farbe wurde bereits in schwachem Licht durch niedrigere Konzentrationen als in hellem Licht unterdrückt.

(Schluß folgt.)

1) Migula, System der Bakterien. Bd. I. p. 291.

Nachdruck verboten.

Ueber die Wirkung einiger Metallsalze und einatomiger Alkohole auf die Entwicklung von Schimmelpilzen.

[Aus dem pharmakologischen Laboratorium der Kaiserl. militärmedizinischen Akademie zu St. Petersburg.]

Von **K. S. Iwanoff.**

Durch verschiedene Untersuchungen ist schon früh die toxische Wirkung vieler Giftstoffe auf die Entwicklung von Pilzen festgestellt worden. Der Einfluß von Veränderungen der Wachstumsbedingungen auf die Formentwicklung von Pilzen ist auch schon oft untersucht worden; dabei haben sich viele wichtige Resultate herausgestellt.

In letzter Zeit wurde besonders durch Forschungen an Tieren von einigen Zoologen die Frage über die Wirkung der Giftstoffe auf Embryonalformen der niederen Tiere hervorgehoben und eingehend studiert (H. Fühner, C. Herbst, O. Hertwig, Mathews, T. Morgan, J. Loeb u. a.).

Je mehr diese Frage angeregt wird, desto mehr Interesse bietet es, den Zusammenhang der chemischen Struktur des Giftstoffes mit seiner physiologischen Wirkung auch in diesem Falle zu erklären; einige höchst wichtige Anhaltspunkte geben die Arbeiten von E. Fischer, J. Blake, Dassonville, Devaux, Elfving, L. Errera, Eschenhagen, Ewart, Küster, O. Loew, Galeotti, Gaule, Kahlenberg und True, Lillie, Matruchot u. Molliard, W. Migula, Nathanson, Pethybridge, C. Pfeiffer, Raciborski, Rothert, H. de Vries, C. Wehmer u. a.

In Anbetracht alles dessen hat der Autor es nicht als überflüssig angesehen, eine Anzahl von Versuchen mit Reinkulturen von einigen Schimmelpilzen anzustellen; er glaubte bei seiner Versuchsmethode auf folgende Art gewissen prinzipiellen Grundforderungen gerecht zu werden:

1) Die Nährflüssigkeit muß erstens nur diese Bestandteile enthalten, welche unbedingt zur Entwicklung des Pilzes notwendig sind, und zweitens müssen dieselben möglichst rein und in ganz bestimmter Konzentration darin enthalten sein.

2) Die angewendeten Gifte müssen chemisch rein und in Wasser löslich sein, auch dürfen sie mit der Kulturflüssigkeit weder Niederschläge noch Trübungen hervorbringen. Die Giftquantitäten seien im Gramm-Molekularverhältnisse genommen.

3) Die etwaigen chemischen Veränderungen des Giftes in dem Nährsubstrat müssen nicht außer acht gelassen und, wenn möglich, erklärt werden.

4) Der zu untersuchende Pilz muß morphologisch und chemisch so gut als möglich studiert sein, in angewendeter Nährflüssigkeit schnell wachsen und empfindlich auch gegen minimale Mengen von Gift sein.

Beim strengen Einhalten aller dieser Anforderungen glaubt der Verf., daß sich die Versuche mit Hilfe seiner Methode schnell, genügend genau und billig herstellen lassen.

Zuerst wurde die Untersuchung mit dem Nährboden nach Henneberg (KH_2PO_4 0,5 Proz., MgSO_4 0,2 Proz., CaCl_2 0,02 Proz., Asparagin 0,5 Proz., Glykose 3 Proz.) gemacht, später aber wurde, um noch mehr die Kulturflüssigkeit zu vereinfachen, den Angaben von C. Wehmer entsprechend, das CaCl_2 weggelassen (C. Wehmer, Molisch, Gabritschewsky, H. Goldberger, J. Loeb u. a.) und statt des Gewichtsprozentverhältnisses der Bestandteile das Gramm-Molekularsystem angewendet.

Folglich bestand diese modifizierte Lösung aus:

Lös. G	{	l-Asparagin	0,5	Proz.	$\frac{1}{30}$	Norm.
	{	Glykose	3,0	"	$\frac{1}{6}$	"
		KH_2PO_4	0,44	"	$\frac{1}{30}$	"
		$\text{MgSO}_4 + 7 \text{H}_2\text{O}$	0,246	"	$\frac{1}{100}$	"

Die Bestandteile dieser Lösung wurden bei einigen Versuchen verändert, nämlich: 1) statt Asparagin äquimolekulare Menge von Ammoniumnitrat NH_4NO_3 — Lös. N; 2) statt Glykose äquimolekulare Menge von Saccharose — Lös. S; 3) statt Glykose eine doppelte Menge von Glykose — Lös. DG¹⁾.

Der Zusatz von sterilen Giftlösungen von bestimmter Konzentration (in Molen) zu der vorher sterilisierten Nährlösung geschah mit Hilfe einer sterilen Pipette (0,02 ccm geteilt).

Einige in pharmakologischer Hinsicht höchst interessante Metalle, als Pb, Ag, Ba u. s. w., und isomere Amylalkohole konnten zum Bedauern nicht zur Untersuchung gebraucht werden, weil die ersten einen Niederschlag, aus den unlöslichen, phosphorsauren oder schwefelsauren Salzen bestehend, mit den Kulturlösungen geben, die anderen in Wasser unlöslich sind.

Ein zur Untersuchung durch sein schnelles Wachstum und genügende Empfindlichkeit gegen Gifte sehr geeigneter Pilz wurde in *Amylomyces* β gefunden, welchen Henneberg morphologisch und chemisch eingehend untersucht hat. Einige Versuchserien wurden mit *Aspergillus niger*, *Mucor spinosus*, *Mucor racemosus*, *Oidium lactis* und *Trichothecium roseum* gemacht.

Die Technik der Arbeit wurde den Angaben von C. Pulst gemäß ausgewählt, nur mit Anwendung von Probierröhrchenkulturen mit möglichst luftdichter Bedeckung und Abmessen der Nährlösung vermittelt etwas modifizierter Abfüllvorrichtung von Prof. Petri.

Von Zeit zu Zeit wurden mikroskopische Untersuchungen der Kulturen gemacht, bei Anwendung der Glykogenfärbung nach

1) Kurze Erklärung der angenommenen Veränderungen der Grundnährlösung G: 1) Die Lösung G und N zum Erhalten von verschiedenen N-Quellen; 2) Nährlösung S zur Untersuchung der Wirkung des Giftes auf die Invertierungstätigkeit des Pilzes; 3) das doppelte Quantum von Glykose wurde angewendet, um das Verhältnis des Kohlenstoffes in DG mit der von S in Gleichheit zu bringen. Bei Anwendung von Lösung G gibt l-Asparagin noch die Möglichkeit, die Wirkung des organischen Salzes des betreffenden Metalles auf die Entwicklung des Pilzes zu untersuchen.

L. Errera und Nasse, Fettfärbung mit Sudan III (L. Errera, Heinze, Henneberg, Hoppe - Seyler - Thierfelder, Strasburger). Das Trockengewicht der Kulturen wurde bei 65° C bestimmt.

Der Verf. brauchte zu seinen Ermittlungen folgende Metalle: Mg, Zn, Cd, Hg⁺⁺, Mn, Ni, Co, Cu; Hg als Bichlorat; alle anderen als Sulfate.

Die angewendeten einatomigen Alkohole waren: 1) Methyl-, 2) Aethyl-, 3) Propyl-, 4) Butyl-, normal, 5) Butyl-, sekundär, 6) Isopropyl-, 7) Isobutyl-, 8) Isoamyl-, 9) Allyl-, 10) Trimethylkarbinol, 11) Amylenhydrat.

Von jeden dieser Giftsubstanzen wurde eine Reihe von Konzentrationen (1 G.-Mol. pro 1—10—500 l, bei Hg bis zu 100 000 l) zur Untersuchung genommen.

Die 42 bisher ausgeführten Versuchsserien gaben folgende Resultate:

1) Bei den Metallen der ungeraden Reihen der 2. Gruppe des Mendeleieffschen Systems der Elemente steigt die Giftwirkung mit dem Atomgewicht Mg, Zn, Cd, Hg⁺⁺, was sich mit den Beobachtungen von J. Blake, Bokorny, E. Koenig, C. Paderi, Paul und Krönig, Ch. Richet, F. Seitz, F. Sestini und den Resultaten von Untersuchungen über die Alkalimetalle (Botkin, O. Loew, S. Przybytek, W. Sigmund) im Einklange befindet.

2) Von den übrigen Metallen ist in der Lösung N am wenigsten giftig Mn, dann Co, Ni, Cu.

3) Die Giftwirkung der Metallsalze ist nicht gleich stark ausgeprägt bei verschiedenen N-Quellen (Lös. G und N), so z. B. haben wir in Nährlösung G die Reihe Mn, Cu, Co, Ni. Außerdem zeigen sich einige Besonderheiten in der Wirkung eines und desselben Salzes in Lösung G im Vergleich mit Lösung N; einige von diesen Erscheinungen lassen sich auf die stattgefundenen chemischen Umsetzungen des Metallsalzes mit der Kulturlösung (l-Asparagin), andere auf die Nahrungsbedingungen des Pilzes zurückführen (siehe C. Pulst, Richards, Ono).

4) Der Einfluß der Kohlenstoffquelle — eines direkt vergärbaren Kohlehydrates (Lös. G, DG) oder eines zu invertierenden (Lös. S) auf die Wirkung des Metallgiftes läßt sich bei einigen Metallen, so z. B. Cu, Cd, Hg, leicht bemerken und kann eine vorläufige, zum Teil chemische Erklärung finden — Bildung von Saccharaten? Anwesenheit von Ca-Salz im Rohrzucker? — zum Teil eine physiologische — Hemmung der Inversionstätigkeit des Pilzes. Es ist dies aber eine Frage noch weiterer Untersuchungen (siehe Le Renard).

5) In den Kulturen von *Mucor spinosus* mit Metallsalzen findet man eine reichliche Ausscheidung von gefärbten kristallinen Niederschlägen (siehe auch C. Wehmer, O. Emmerling).

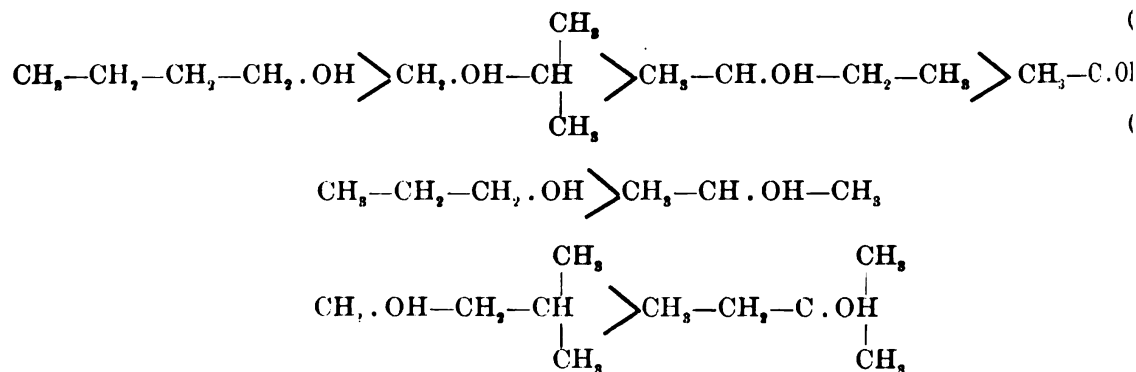
6) Mit Steigerung der Kettenlänge der primären einatomigen Alkohole der Fettreihe steigt auch die Giftwirkung. Diese Regelmäßigkeit von Richardson ist richtig für *Amylomyces* β , Nährlösung G und folgende Alkohole: Methyl-, Aethyl-, Propyl-,

Butylalkohol. Primärer Normalamylalkohol ist in Wasser unlöslich und nicht untersucht (cf. Andigé, Breyer, Buchner, Coupin, Dogiel, Dujardin-Beaumetz, L. Errera [Vandeveldel], Hemmerter, Lamanna, Meissner, Overton, Picaud, Raciborski, Reichert, Sawa, Tsukamoto, G. Wirgin).

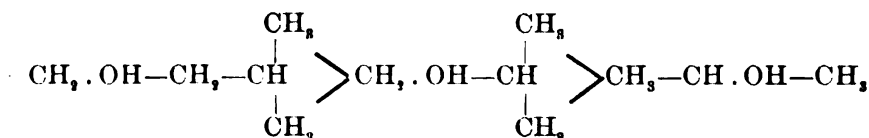
7) Bei den Versuchen mit Butylalkoholen ergab sich, daß der primäre Normalbutylalkohol am giftigsten war; weniger giftig waren: primärer Isobutylalkohol, sekundärer Normalbutylalkohol und tertiärer Isobutylalkohol (Trimethylkarbinol). Primärer Propylalkohol ist giftiger als sekundärer; primärer Isoamylalkohol wirkt stärker als tertiärer Amylalkohol (siehe S. Przybytek, Schapirrow, Schneegans und Mehring, G. Wirgin).

Diese Erscheinungen lassen sich mit chemischer Reaktionsfähigkeit der Isomeren (-Esterifizierungsgeschwindigkeit, Alkoholatenbildung, Oxydationsprodukte) in Zusammenhang bringen und sind mit Literaturangaben im Einklange.

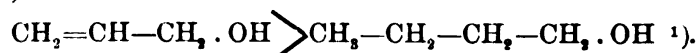
Das oben Gesagte in Formeln ausgedrückt:



Außerdem haben wir



8) Alkohol mit doppelter Bindung — Allylalkohol — hat eine höhere Giftwirkung als sogar normaler Butylalkohol (siehe Spica, Meissner)



9) Wenn die Giftkonzentration das Wachstum des Pilzes erlaubt, beobachtet man makroskopisch dreierlei Arten von Entwicklung: α) Mehr oder weniger verlangsamtes Wachstum und sonst normalen Entwicklungsgang; β) verlangsamtes Wachstum und anormale Entwicklung der Reproduktionsorgane; γ) kümmerliches und abnormes Mycelwachstum (J. Beauverie, C. Pulst, H. Zimmermann, Yasuda).

1) Das Zeichen $>$ hat die Bedeutung: Allylalkohol z. B. wirkt stärker als norm. Butylalkohol etc.

10) Morphologische Veränderungen, die von Metallsalzen und Alkoholen hervorgebracht werden, stehen im Zusammenhange so wie mit osmotischen Eigenschaften der betreffenden Giftlösung, als auch mit dem chemischen Charakter derselben (cf. A. Vandevelde, G. Wirgin).

11) Die Mycelveränderungen durch verschiedene Gifte sind etwas verschieden, so z. B. bei Cu grobkörniger, etwas plasmolyzierter, rotbrauner Zellinhalt, einige Kristallkonkretionen in der Zelle, scheinbar verminderte Glykogenbildung, bei Zn erhöhte Vakuolisierung des Zellinhalts, scheinbar vermehrte Riesenzellenbildung.

Im allgemeinen aber sind die Veränderungen des Mycels ziemlich gleichförmig und bestehen entweder in Quellungserscheinungen des Zellinhalts mit Erhöhung des Turgors oder in der Bildung eines dichten, grobkörnigen Protoplasmas mit plasmolytischen Erscheinungen (Klemm). Bei einigen Metallen kommt besonders eine gesteigerte Bildung der Zellmembranen, „Verdickungen“, „Thyllen“, „Skleriden“, zum Vorschein, obgleich dieselbe sich auch bisweilen in Alkoholkulturen bemerken läßt. Besonders reichhaltig entwickeln sich die verschiedensten Hemmungsformen des Myceliums, perl schnurartige Gebilde, Riesenzellen, Desmidium-Formen, Klumpen, hirschhornartige, gelappte, Cladophora-ähnliche, spiral gewundene oder zwergartige Mycelium-Formen und noch viele andere. Die Energie des Teilungsprozesses im Mycel ist oft merklich gesteigert: Ketten, Hefen, Gemmenbildung oder fast totale Zergliederung des Mycels. Die Fortpflanzungsorgane zeigen auch verschiedene Hemmungserscheinungen. Die Versuche mit Alkoholen und einigen Salzen (Cu, Co, Ni) ergaben einige Besonderheiten in der Glykogenbildung und Fettablagerung, bei denen sich vorläufig eine bestimmte Erklärung noch nicht aussprechen läßt. Es wurde zuweilen eine solch kolossale Glykogenbildung beobachtet, daß man fast an eine Glykogendegeneration glauben konnte (cf. E. Laurent).

Die Färbungsfähigkeit der Zellmembranen mit L. Erreras und Nasses Lösung ist verschiedenartig ausgeprägt; vielfach beobachtet man eine reine Violettfärbung, eine braungelbe, auch sogar rotbraune Färbung; besonders interessant sind die Erscheinungen an den verdickten Membranen. Fettfärbung mit Sudan III ergab nichts Besonderes, außer dem Beweise, daß viele hyalin degenerierte Teile des Hypheninhaltes aus Fett bestehen.

Ungeachtet vieler (mehr als 500 Einzelkulturen) mühsamer Beobachtungen können aber alle diese morphologischen Befunde vorläufig schwer systematisiert werden, und es ist eine Frage der Zeit, eine annehmbare Systematisation der Prozesse bei allen diesen Veränderungen zu bringen.

12) Auf Grund einiger Resultate (Cu) kann man sich mit der Theorie von J. Loeb einigen, nämlich daß die Metalle eine Verbindung mit gewissen Teilen des Plasmas des Organismus eingehen, indem sie eine Veränderung in demselben hervorbringen und eben dadurch die Giftwirkung ausüben (Devauux, J. Loeb).

Die beobachteten Regelmäßigkeiten in der Giftwirkung von Alkoholen fallen mit dem dritten Satze von O. Loew zusammen:

„Wird in einem Gifte der chemische Charakter labiler, so nimmt der Giftcharakter zu“

Bei dieser Gelegenheit spreche ich meinen besten Dank Herrn Dr. S. S. Mereschkowsky für freundliche Unterstützung und Rat, Herrn Prof. W. Wahrlich für wertvolle Ratschläge und Herrn Prof. N. Krawkow für die liebenswürdige Erlaubnis, diese Versuche in seinem Laboratorium anzustellen, aus.

Die Literatur- und experimentelle Bearbeitung der Frage ist noch nicht beendet, daher darf dieser Bericht nur als eine vorläufige Mitteilung angesehen werden.

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis des Hefewachstums in mineralischer Nährlösung.

[Aus der Versuchsstation für Spiritusbrennerei und verwandte Gewerbe an der k. k. Staatsgewerbeschule in Krakau.]

Von T. Chrząszcz.

Die zwei letzten Arbeiten von A. Kossowicz¹⁾ veranlassen mich, von einer Arbeit, in der ich die Hefewachstumsbedingungen studiere und die noch nicht so bald fertig sein wird, diesen Teil herauszunehmen, in dem es sich um die fragliche Substanz „Bios“ der Hefe handelt, um dieses hier in Kürze zusammenzufassen.

Als ich im Jahre 1901/1902 in Berlin war, habe ich auf Veranlassung des Herrn Prof. Dr. P. Lindner einige Versuche angestellt, um die Richtigkeit der Wildiersschen Beobachtungen nachzuprüfen. Wildiers hat beobachtet, daß wenn man in eine gezuckerte mineralische Nährlösung ein kleines Quantum Hefe aussäte, so zeigt sich in solcher Lösung keine Gärung, ja sogar keine Vermehrung und die Hefe geht zu Grunde. Verantwortlich dafür hält Wildiers eine neue, bisher ganz unbekannte Substanz, „Bios“, von welcher die Vermehrung der Hefe abhängig ist, denn fehlt es an der Substanz „Bios“, so zeigt sich auch kein Hefewachstum.

Die Versuche, welche in Berlin angestellt wurden, hatten keine Ansprüche auf eine genaue Nachprüfung, es hat sich nämlich nur um ein Orientationsresultat gehandelt. Es wurde also nach den Angaben Wildiers eine mineralische Nährlösung von gewöhnlichen Laboratoriumsreagenzien, destilliertem Wasser und nicht gefärbtem Zucker vorbereitet. Die trübe Lösung war in Quantitäten von 100 ccm in 200 ccm-Fläschchen verteilt, sterilisiert und nach dem Erkalten mit Hefe Rasse II infiziert. Vier Proben, welche man zum Versuche anstellte, wurden so behandelt, daß zu einer Flasche eine kleine Oese, zur zweiten eine große Oese der in einer vergorenen Flüssigkeit verteilten Hefe, zu der dritten eine kleine Oese, zu der vierten 3 Oesen der Hefemasse zugesetzt wurden.

Der Versuch hat die Frage im Sinne der Angaben Wildiers beantwortet. In den zwei ersten Fläschchen war keine Hefeent-

¹⁾ Zeitschr. f. landw. Versuchswesen in Oesterreich. 1903. Sonderabdruck, und Zeitschr. f. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Bd. VI. p. 731.

wicklung wahrzunehmen, in der dritten schwaches Wachstum, und erst in der vierten hat eine starke Hefeentwicklung und Gärung stattgefunden. Die Befunde haben also gezeigt, daß die merkwürdige Substanz „Bios“ doch eine Berechtigung zu haben scheint.

Inzwischen haben sich mehrere Autoren, wie Fernbach¹⁾, Krieger²⁾, Windisch³⁾ u. s. w., mit Wildiers Anschauungen befaßt und diese von mehreren Seiten angegriffen. Eine verlockende Erklärung des Biosbefundes in der Hefe gibt Windisch, indem er sich auf die Beobachtungen von Nägeli stützte und glaubt, daß die Ursachen des Wachstums ausbleiben bei der in kleinem Quantum ausgesäten Hefe, und führt dies auf die Giftigkeit der in Spuren sich im destillierten Wasser befindlichen Metalle zurück⁴⁾. Diese Erklärung kann auch in der Arbeit von Nathan über „den giftigen Einfluß der Metalle auf gärende Flüssigkeiten“⁵⁾ eine Unterstützung finden.

Indem ich diese kritischen Bemerkungen stark vor Augen hatte, wendete ich mich im Jahre 1902/1903 wieder diesem Thema zu.

Vor allem war es also das Allerwichtigste, die möglichst reine Darstellung von beim Versuche verwendeten Chemikalien und destilliertem Wasser zu erlangen.

Zu diesem Zwecke habe ich das aus dem Apparate erhaltene Wasser einer neuen Destillation unterzogen und zwar wurde es einmal alkalisch gemacht mit Soda, das zweite Mal angesäuert mit Schwefelsäure und endlich wurde es noch 2mal destilliert, ohne irgend einen Zusatz. Die Destillation wurde in Jenaglasgeräten gemacht und von dem Destillate nur die mittlere Partie, also $\frac{1}{3}$ des Ganzen, gesammelt und der weiteren Operation unterzogen.

Als Mineralsalze wurden die „pro Anal.“ von Kahlbaum bezogen und noch einmal gereinigt durch 3maliges Umkristallisieren. Zur Auflösung der Salze wurde das frisch vorbereitete Wasser genommen. Der Zucker war durch 4maliges Umkristallisieren gereinigt.

Nach solcher Behandlung, obwohl noch nicht behauptet werden kann, daß mit absolut reinen Substanzen gearbeitet wurde — waren es doch sehr reine Präparate.

Von den rein dargestellten Präparaten wurde nach Wildiers Angaben eine Nährlösung vorbereitet. Nach dem Zusatz von CaCO_3 scheidet sich ein weißer Niederschlag von $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ab, der nach der Sterilisation der Lösung stark zugenommen hat. Eine in diese Nährlösung geimpfte beliebige Hefe in der Menge einer großen Platinöse wuchs ziemlich gut. Da der Niederschlag in der Einzelbeobachtung störte, wurde die Nährlösung folgendermaßen vorbereitet:

H_2O	1000	g
Zucker	100	„

1) Annales de la Brasserie et de la Distillerie. 1901. p. 510.

2) Amerik. Bierbrauer. 1901. p. 712.

3) Wochenschr. f. Brauerei. 1902. p. 2.

4) Wochenschr. f. Brauerei. 1902. p. 27.

5) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. p. 93.

MgSO ₄	2,5 g
KCl	2,5 "
Nw ₄ Cl	2,5 "
Na ₂ HPO ₄	2,5 "
CaCO ₃	0,5 "

Nach der Auflösung wurde gut durchgeschüttelt und in zwei Hälften geteilt, die eine „a“ filtriert, die andere „b“ samt dem ausgeschiedenen Niederschlag auf Reagenzgläser, eventuell Fläschchen im Quantum von 10 ccm und in kleine Kölbchen mit 50 ccm Flüssigkeit verteilt. Die klare Flüssigkeit wurde mit Molybdänlösung auf Phosphorsäure geprüft und zeigt nur in Spuren einen gelben Niederschlag; auch mit Oxalsäure auf CaO geprüft, gibt sie nur einen sehr schwachen nebeligen Niederschlag.

Nach einer Reihe von Versuchen mit verschiedenen Hefearten, die ich hier nicht näher angebe, wurden weitere Versuche mit 4 Heferassen, die sich diesbezüglich ziemlich typisch verhalten, durchgeführt. Es wurden verwendet: Brauereihefe „Weihenstephan“, Brennereihefe „Rasse II“, Weinhefe „Steinberg“, und eine wilde Ellipsoidenshefe „Bielany“, die ich als sehr stark gärende Obstweihefe aus einem Brombeerenmost isoliert habe.

Ein Vergleichungsstudium überzeugt, daß die Nährlösung b für die Hefe viel günstiger ist als die Lösung a, was auch voraussehen war. Die Hefe von einer frisch ausgegorenen Bierwürze im Quantum einer kleinen Platinöse in die Flüssigkeit ausgesät, verhält sich in beiden Lösungen ungleich. Während die Nährlösung b am 2. Tage bei Zimmertemperatur einen ziemlich deutlichen Hefebodensatz und eine schwache Angärung zeigt, war bei a nur eine sehr schwache Hefeentwicklung und keine merkbare Angärung. Den nächsten Tag zeigte b schon eine deutliche Gärung, während bei a das Bild sehr ähnlich wie am 1. Tage war. Den 4. Tag war bei b eine starke Gärung, während bei a das Bild sogar nicht so gut wie bei b nach dem 1. Tage war. Sogar den 7. Tag, wo b schon fast vollständig ausgegoren war, habe ich in a erst eine schwache Gärung wahrgenommen.

War die Hefeaussaat eine sehr kräftige, und zwar zu einer 10 ccm Lösung eine große Oese der Hefemasse, aus frisch vergorener gehopfter Bierwürze, so zeigt sich das Bild anders. Das Hefewachstum, wie auch die Gärung verläuft in beiden Lösungen a und b schnell und ziemlich gleich, doch konnte man bei a zu Gunsten von b im Verlaufe des ganzen Prozesses eine Verspätung von einem Tag konstatieren.

Da diese Versuche noch die Ungenauigkeit haben, daß die Hefe von der Bierwürze abgeimpft wurde und deshalb immer samt Hefe auch etwas Würze mitgenommen war, so wurden noch zwei weitere Versuche angestellt, wo das Hefeabimpfmateriale die Eprouvette mit Lösung b von dem vorherigen Versuche bildete. Diese zeigen im allgemeinen Verhalten keinen Unterschied, so daß die kleine Würzmenge, welche bei der Hefeaussaat in die zu prüfende Flüssigkeit mitgebracht wurde, keinen merkbaren Einfluß übte.

Es ist auch nicht ohne Belang für die Geschwindigkeit und Kräftigkeit der Entwicklung, ob die zur Untersuchung genommene Flüssigkeit mit dem Sauerstoff der Luft gesättigt ist oder nicht, auch zeigt sich ein Unterschied, ob die Versuche in Fläschchen mit breitem Boden, so daß die Flüssigkeit in niedriger Schicht liegt, oder ob diese in engen Eproutetten angestellt sind. Je höher die Flüssigkeitsschicht ist, desto langsamer verläuft der ganze physiologische Prozeß. Jedoch finden wir dasselbe auch bei den Flüssigkeiten, die für die Hefeentwicklung sehr günstig sind.

Ein Vergleichsstudium mit einer Wildiers-Lösung, die aus nicht gereinigten Chemikalien und gewöhnlichem destillierten Wasser zubereitet wurde, zeigt zu Gunsten der ersteren eine bessere Entwicklung, was in gewissem Maße eine Bestätigung der Windischen Anschauungen wäre. Auch hier wie oben wurden 2 Lösungen a und b vorbereitet, die bei schwacher Hefeaussaat keine Entwicklung zeigten; bei einer kräftigeren Aussaat, einer großen Platinöse, war bei a keine Entwicklung, bei b nur eine sehr schwache (beobachtet 10 Tage). Bei einer Aussaat von 1 großen Oese der Hefemasse war auch hier im Vergleiche mit der 1. Lösung eine schwächere Entwicklung zu konstatieren.

Aus dem Vorgeführten geht hervor, daß die meisten Laboratoriumsreagenzien bezw. das destillierte Wasser irgend einen hemmenden Einfluß auf das Hefewachstum und die Gärung ausüben — welcher vielleicht nach Nägeli-Windisch eventuell Nathan metallischer Natur oder einer anderen sein kann — fest ist jedoch, daß in diesen eine hemmende Kraft liegt. In ähnlichem Sinne wirken z. B. Schwefelsäure oder ein Strychninsalz¹⁾ (wie mich die weiteren Untersuchungen überzeugten, die noch nicht publiziert sind). Je stärker der Zusatz der erwähnten Chemikalien über eine gewisse Grenze war, desto stärker war auch der hemmende Einfluß.

Und zweitens, je weniger Phosphorsäure bezw. Kalk und Magnesium in der Lösung ist, desto schlechter geht die Hefenvermehrung und Gärung vor sich.

Nach der Feststellung, daß die Nährlösung b günstiger als a ist, war es interessant, nachzuweisen, wie sich die verschiedenen Heferassen gegen die erwähnten Flüssigkeiten verhalten.

Eine ganze Reihe von Versuchen belehrt, daß es nicht ohne Belang ist, mit was für einer Heferasse man es zu tun hat, und dies zeigte sich besonders deutlich, wenn die Hefeaussaat eine kleine war. Als die widerstandsfähigste zeigte sich die wilde Ellipsoideus-Obstweihefe „Bielany“. Im Falle, wo die anderen schon keine Vermehrung mehr zeigten, konnte man bei dieser noch eine Entwicklung konstatieren. Dann kommen der Reihe nach Weinhefe Steinberg, Brauereihefe Weihenstephan, am schwächsten war Brennereihefe Rasse II. Daß die Bielanyhefe sich hier als die kräftigste und widerstandsfähigste zeigen würde, war in voraus zu

1) Das betreffende Salz habe ich durch die Güte des Herrn Dr. J. Buraczewski erhalten.

hoffen, denn die wilde Hefe muß doch sehr oft unter ganz spärlichen Bedingungen wachsen, um ihr Dasein zu erhalten. Die Weinhefe Steinberg, die der wilden Hefe am nächsten stehende, zeigt sich als ziemlich kräftige; es ist aber merkwürdig, daß die als so kräftige Hefe angesehene Brennereihefe Rasse II sich als die anspruchsvollste zeigte.

Obwohl die Hefen in den ihnen angebotenen mineralischen Nährlösungen wachsen, ist ihnen doch die Zusammensetzung der Lösung nicht günstig, wie uns ein Mikroskopierbild leicht überzeugen kann. Die Hefe Rasse II von Bierwürze ist ziemlich groß, von mehr rundlicher Gestalt; die von Flüssigkeit b bei schwacher Aussaat erhaltene hat die Zellen nach 5 Tagen durchschnittlich kleiner — es finden sich kleine neben ziemlich viel Riesenzellen. Alle zeigen eine mehr gestreckte Gestalt, besonders sieht man das bei Riesenzellen, die manchmal stark gestreckt sind. Das Plasma ist in den meisten Zellen (Riesenzellen) sehr stark granuliert, man sieht oft auch große Oeltropfen. Mit Jod färben sie sich nur gelb, also ist kein Glykogen vorhanden. Mit Anilinfarben färben sich die Zellen durchschnittlich sehr leicht; manche von den Zellen färben sich stark, andere schwach, es sind also viele tote und abgeschwächte vorhanden; — am wenigstens färben sich die kleinen Zellen, deren Plasma auch ganz homogen ist.

Die Hefe in der Flüssigkeit a sieht der in der Flüssigkeit b ähnlich, nur die Zellen sind noch etwas kleiner; es fehlt ihnen fast gänzlich an Riesenzellen und sie sind noch stärker granuliert.

Was die Hefe Rasse II anbelangt, so betrifft das mehr oder weniger auch die anderen Heferassen.

Je ungünstiger die Bedingungen sind, eine desto mehr gestreckte Form zeigen die Hefezellen, was ich schon vorher für die Amöben nachgewiesen habe¹⁾. Die Größe der Zellen ist kleiner und deren Plasma ist entweder sehr stark granuliert oder es zeigt sich mehr homogen. Die ersteren sind gewöhnlich abgestorbene Zellen, die letzteren, deren Plasma dichter zu sein scheint, bilden eine Art Dauerform. Jedenfalls sind diese Zellen viel widerstandsfähiger und sie sind eben diejenigen, welche die weitere Fortpflanzung veranlassen.

Um den Nährwert der Lösung zu heben, wurden weitere zwei Lösungen von folgender Zusammensetzung vorbereitet:

H ₂ O	100	g	H ₂ O	100	g
Zucker	10	"	Zucker	10	"
MgSO ₄	0,2	"	MgSO ₄	0,2	"
K ₂ SO ₄	0,2	"	K ₂ SO ₄	0,2	"
Asparagin	0,5	"	Pepton	0,5	"
Na ₂ HPO ₄	0,5	"	Na ₂ HPO ₄	0,5	"
CaCO ₃	0,1	"	CaCO ₃	0,1	"

Diese Lösungen, und zwar die mit Pepton versetzten, sollten im Sinne der Angaben Wildiers „Bios“ enthalten und deshalb eine günstige Nährlösung darstellen. In Wirklichkeit war die Lösung mit Pepton viel besser, doch steht sie diesbezüglich viel

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. p. 431.

hinter der süßen Bierwürze oder dem gezuckerten Hefewasser zurück. Das zeigt, daß in dieser Nährlösung noch etwas fehlt, was das Wachstum begünstigt.

Die Ausscheidung von Phosphorsäuresalzen, also das Fehlen der Phosphorsäure sowie des Kalkes und Magnesiums bzw. ihrer löslichen Form, sehe ich hier also als die Hauptursache des Wachstumsausbleibens der Hefe in gezuckerten mineralischen Lösungen an. Eine Unterstützung dieser Meinung finde ich darin, daß nach Zusatz von etwas $\text{Mg}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ und $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ zu einer der vorher vorbereiteten Nährlösungen die Hefeentwicklung in hohem Grade begünstigt wird, so z. B.: Die Lösung mit Pepton nach Zusatz von erwähnten Salzen verhält sich fast ganz gleich wie gezuckertes Hefewasser; oder in Fällen, wo vorher die Rasse II keine Entwicklung zeigte, geht diese nach Zusatz von einfach basischen Calcium- und Magnesiumsalzen ganz gut vor sich.

Um eine Menge von Versuchen durchzuführen, wurde eine größere Menge einer Lösung von folgender Zusammensetzung vorbereitet:

H_2O	100	g
Zucker	10	"
$\text{Mg}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0,2	"
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0,2	"
K_2SO_4	0,2	"
Asparagin	0,5	"

In dieser Lösung entwickelt sich die Hefe ganz gut, auch zeigte sie keine anormalen Gestalten, so daß von allen künstlich vorbereiteten mineralischen Nährlösungen die letzte eine der besten ist.

Doch kann ich nicht unerwähnt lassen, daß auch diese Lösung im Vergleiche mit der Bierwürze hinter ihr steht, das zeigt sich besonders auffallend bei einer minimalen Hefeaussaat.

Bei einer Aussaat von ca. 10–20 Zellen wurde beobachtet, daß die Entwicklung manchmal ganz gut vor sich geht und wieder ein anderes Mal ausbleibt. Meine Bemühungen, diese Unregelmäßigkeit zu erklären, haben mich zu keinem sicheren Resultat geführt, ich hoffe aber, daß die Untersuchungen, welche ich über Hefewachstumsbedingungen fortführe, mir die Lösung der Frage ermöglichen wird.

Ein Zusatz zu der letzten Lösung CaCO_3 bewirkt eine Ausscheidung von Phosphorsäuresalzen und die erhaltene Lösung nimmt an Güte ab, und verhält sich ähnlich wie eine von reinen Chemikalien vorbereitete Lösung.

Kossowicz¹⁾ erwähnt, daß Calciumsalze das Hefewachstum begünstigen, was ich nur bestätigen kann, wenn Ca in Form von löslichem Phosphorsalz zugesetzt wird.

Was Eisen anbelangt, so habe ich es in Form von Chlorid zugesetzt, jedoch konnte ich in keinem Falle weder eine deutliche Begünstigung, noch Verhinderung des Hefewachstums konstatieren.

1) Zeitschr. landw. Vers.-Wesen Oesterr. Bd. VI. p. 431.

Abnorme Zellformen von Brennereihefen.

Von W. Henneberg, Berlin.

Mit 1 Tafel.

Bei meinen Studien über die im großen in der Hefezuchtanstalt des Institutes für Gärungsgewerbe und in der Versuchsbrauerei gezüchteten Kulturheferassen hatte ich zur Ermittlung der Lebensdauer die absoluten Reinkulturen nach der Züchtung in Würze im feuchten Zustand in kleinen Flaschen mit Watteverschluß bei verschiedenen Temperaturen längere Zeit aufbewahrt. Nach einiger Zeit hatten sich sehr eigentümliche Zellen gebildet, über die hier kurz berichtet werden soll. In der Wochenschrift für Brauerei sind hierüber noch weitere Angaben zu finden.

Die Bedingungen dieser abnormen Zellbildungen sind für die Brennereihefen Rasse II und XII, für die obergärrige Brauereihefe (Weißbierhefe) und für die untergärrigen Brauereihefen Froberg und Saaz, also wahrscheinlich für die meisten oder alle Kulturheferassen ganz gleich. Bei dem längeren Aufbewahren der ausgewaschenen Reinkulturhefen bei höheren Temperaturen sterben allmählich die meisten Zellen ab. Die abgestorbenen Zellen werden durch Selbstverdauung nach und nach fast leer. Durch Verdunsten des Wassers konzentriert sich die Lösung der entstandenen Eiweißzerfallprodukte, so daß sich zahlreiche Kristalle in der dickbreiigen dunkelgefärbten Hefemasse bilden. Die wenigen überlebenden Zellen (Sporen sind ebenfalls spärlich vorhanden) vermehren sich zum Teil ein wenig, und bilden teilweise abnorme Formen aus.

Untersucht man die Hefemasse, so findet man mehr oder weniger stark vergrößerte (8,4—9,8 μ) runde, eiweiß- und fettreiche Zellen (Bild 3—3f), außerdem kleinere, bei denen eine Haut anscheinend gänzlich fehlt (Bild 3h), und schließlich auch unregelmäßig geformte größere Zellen (Bild 3g). Wir wollen hier als Beispiel die Zellen von Rasse XII, die in den beigegefügtten Bildern dargestellt sind, wählen. (Rasse II verhielt sich fast genau so.) Ich erhielt die in Rede stehenden Formen z. B. in 7 Tagen bei 32—34° und in 43 Tagen bei 22° C.

Einige Zellen sind bereits in der Hefemasse in Sprossung. (Bild 1 normal, 3a, 3f.) Die Hauptzahl (in einigen Versuchen lebten nur noch 1 Proz., davon waren 1—28 Proz. anormal) sproßt normal, bei anderen gehen aus einer großen Mutterzelle normale Sprossen hervor, oder die großen Zellen sprossen nur einmal ungewöhnlich groß. Sonderbare Formen kommen dadurch zu stande, daß eine große Zelle auf sehr breiter Basis sproßt und keine Trennungswand ausgebildet wird.

Bringt man solche Zellen in wenig Wasser, so sterben meist die größten, anscheinend teilweise durch Zerplatzen, ab. Manche Zellen werden doppelwandig, können aber am Leben bleiben. Viele der ungewöhnlich großen Zellen sprossen einige Male ganz

anormal oder mehr oder weniger normal. In Würze (im hängenden Tropfen nach 1—2 Tagen) ist die Mannigfaltigkeit viel größer. Erwähnenswert ist, daß im Gegensatz zu den abnorm großen Zellen auch ungewöhnlich kleine sich hier finden ($3,3—4,2 \mu$). Wir erblicken hier, wie in Bild 4—11 dargestellt ist, zunächst ganz außerordentlich große kuglige Zellen (Bild 7) ($13,3—42 \mu$ im Durchmesser, normale Hefezellen maßen $6,8:5,9 \mu$), deren Plasma oft nur einen $1,4 \mu$ breiten, gleichmäßig oder sichelförmig geteilten Wandbelag bildet. Die Körnchen in diesen und den übrigen großen Zellen führen lebhafte Bewegung aus, die nach dem Tode sogleich aufhört. Andere Zellen (Bild 4 a u. b) sind unregelmäßig breitgedrückt (z. B. $16,8:11,9$ oder $28:9,8 \mu$). Am interessantesten sind die Amöbenformen ($25—40 \mu$) mit wechselnder Gestalt. In der in Bild 8 dargestellten Zelle veränderte der Plasmaring allmählich seine Gestalt. Bei einer anderen Zelle (Bild 11) war die Form und der Inhalt mit den vielen Vakuolen auffallend amöbenähnlich, wie es auch in geringerem Grade bei den Zellen 3h, 9 u. 10 der Fall war. Die einzelnen nacheinander innerhalb von 20 Minuten angenommenen Zellformen der Hefe 11 sind mit der Zeitangabe im Bild dargestellt. Aus einer langgestreckten Amöbenform kann, wie die Abbildung zeigt, eine Kugelform werden. Es ist in manchen Fällen die Bewegung verhältnismäßig schnell, so daß die Konturen mit dem Zeichenapparat nicht oder kaum festgehalten werden konnten. Andere Amöbenformen, besonders im älteren Zustand, bewegen sich manchmal während einiger Stunden fast nicht. Bewegung im Plasma wurde bisher nicht wahrgenommen. Die kleineren (pseudopodienähnlichen) körnerfreien Ausstülpungen führen träge aber deutliche Bewegungen aus.

Vermehrung durch Sprossung zeigen die ungewöhnlich großen Kugelzellen nur selten, meistens sterben sie nach 1—4 Tagen ab. Die einzelnen Fetttröpfchen fließen nach dem Tode zu größeren zusammen, während die Gestalt mehr und mehr zusammenschrumpft. Auch bei der Amöbenform tritt, oft schon nach 1 Tag, frühzeitiger Tod ein. In Bild 10 ist eine soeben abgestorbene, hautlose, amöbenartige Zelle mit den sich bildenden größeren Fetttröpfchen dargestellt. Äußerst selten trennten sich einzelne nicht hefeähnliche Teile von den abnormen Zellen ab, doch war nicht mehr sicher zu entscheiden, ob der amöbenförmige Teil die Mutterzelle oder die Tochterzelle war. Die wunderlichsten Gestalten konnten beobachtet werden (z. B. Bild 9).

Daß die großen Rundzellen aus den in der Hefemasse oft zu findenden kleineren Rundzellen durch Aufquellung hervorgehen, ist öfters beobachtet worden. Schwieriger gelingt es, die Herkunft der Amöbenformen zu beobachten. Es kann aus vielen Tatsachen aber mit Sicherheit geschlossen werden, daß sie ebenfalls aus den kugeligen oder breiten Zellen, wahrscheinlich aus solchen mit abnorm dünnen Zellwänden, hervorgehen. Bei einer großen Kugelzelle von Rasse II hatte z. B. an einer Stelle das Plasma einen amöbenähnlichen, in der Gestalt veränderlichen Ausläufer ge-

bildet. Dieser Teil blieb nach dem Tode der Rundzelle noch am Leben.

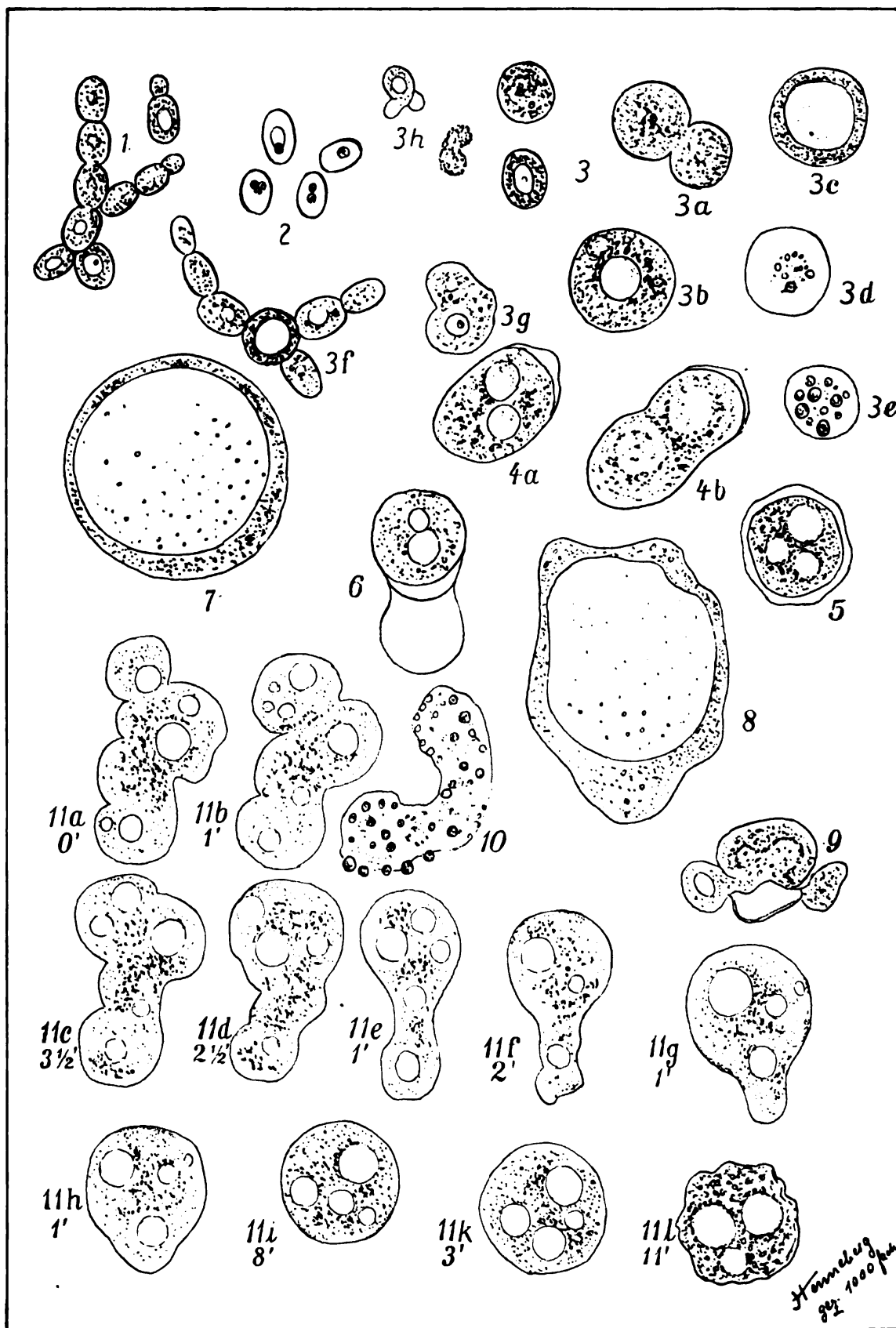
Eine Art Häutung wurde nur einige Male, z. B. bei der Hefezelle 6 beobachtet. In diesem Falle war die Zellhaut deutlich zu sehen, ebenso bei vielen abgestorbenen und leer gewordenen oder zerplatzten Zellen. Oefters war aber eine Haut bei den toten Zellen nicht zu erkennen.

Durch viele Versuche wurde festgestellt, daß das Entstehen der einzelnen Formen, besonders der Bewegung zeigenden Amöbenformen, von ganz bestimmten Konzentrationsverhältnissen abhängig ist. In geringen und in starken Verdünnungen bekommt man diese Formen meist nicht, dagegen oft sehr zahlreich in den mittelstarken. Zum Isolieren einzelner Zellen ist eine starke Verdünnung aber unbedingt nötig. Hierbei erwies sich der aus Reinkulturhefe hergestellte Hefeextrakt (Rasse XII 24 Stunden bei 48° C) als sehr günstig, da er dieselben Stoffe in derselben Konzentration enthält, wie sie in dem Ausgangsmaterial vorhanden sind. Diese Stoffe kristallisieren zwischen den Zellen in langen Nadeln aus.

Es mag noch bemerkt sein, daß auch in faulen Hefemengen (Büchsenhefen) abnorm große Kugelzellen von Brennerei- und Weißbierhefen, allerdings nur selten, gefunden sind. Hier kamen sie aber infolge der zu starken Bakterieninfektion nur bei geringeren Wärmegraden (6—17°) und dementsprechend erst nach längerer Zeit (60—112 Tagen) zur Beobachtung. Auch hier mußte erst die Hauptmenge der Zellen zur Bildung der Zersetzungsprodukte abgestorben sein.

Die oben beschriebenen abnormen Formen sind jedenfalls Krankheitserscheinungen. Mit den bei untergärigen Hefen häufigen normalen Reservezellen haben sie wohl nichts gemeinsam, ebenso dürften sie wohl nicht mit hypertrophischen Formen (Involutionsformen) der Bakterien völlig gleichgestellt werden. Wie nach meiner Ansicht die ungewöhnlich große Fett- und Glycogenansammlung in manchen Zellen als pathologisch aufzufassen ist, so auch hier der Mangel einer festeren Zellhaut. Letzteres dürfte nämlich wohl das Entstehen der Bewegung zeigenden Amöbenformen bedingen.

Die Untersuchungen werden weiter fortgesetzt, da sie uns vielleicht Aufschlüsse über die normale Zelle verschaffen können. Ist z. B. die Zellhaut der einzelnen Heferassen verschieden, so könnte sich dies bei den abnormen Formen deutlich zeigen. Die Versuche mit Saaz und Froberg sind daher bereits begonnen. Vielleicht bilden sich nämlich die hautlosen Amöbenformen nur bei den zartwandigen Brennereihefen. Es müssen weitere Untersuchungen zeigen, ob sich nicht auch in Lösungen von bestimmten, rein dargestellten chemischen Körpern, die bei der Selbstverdauung der Hefen entstehen, oder in konzentrierten Hefeextraktlösungen die Bildung der abnormen Zellformen einstellt.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Tafelerklärung.

Abnorme Hefezellen bei der Brennereihefe Rasse XII, 1000mal vergrößert.

1. Normale Hefezellen in Sproßverband.
2. Durch Selbstverdauung fast leere Zellen.
- 3 a—h Abnorme Zellen in der feuchten Hefemasse (Reinkultur bei warmer Temperatur).
 3. Mittelgroße eiweißreiche Rundzellen.
 - a Ebenso in Sprossung.
 - b Etwas größere Zelle mit Vakuole.
 - c Ebenso mit großer Vakuole.
 - d Abgestorben mit wenig Inhalt.
 - e Abgestorbene fettreiche Zelle, deren Fetttröpfchen zusammenflossen.
 - f Eine mittelgroße Rundzelle sproßt normal aus, die Tochterzellen werden allmählich auch in der Größe normal.
 - g Unregelmäßig geformte Zelle.
 - h (Rechts) lebende Zelle mit sehr dünner oder fehlender Haut. (Links) ebenso mit 2 amöbenähnlichen Vorstülpungen des Plasmas.
- 4a Breite Zelle mit doppelter Zellhaut an einem Ende.
 - b Nach 1 Tag in Würze Größezunahme. (Feuchte Hefemenge 32 bis 34° C nach 14 Tagen.)
5. Mittelgroße Rundzelle doppelwandig geworden durch Einbringen in Würze.
6. Eine ähnliche Zelle nur an einer Stelle doppelwandig, ist nach 1 Tag aus der Membran herausgetreten und wiederum an derselben Stelle doppelwandig geworden (in Würze).
7. Sehr große Rundzelle mit sehr großer Vakuole (nach 1 Tag in Würze aus einer kleineren, ähnlich wie bei 3 b, entstanden).
8. Sehr große unregelmäßige Zelle, deren Form sich ändert (1 Tag in Würze, feuchte Hefemenge, 22° C am 59. Tage).
9. Unregelmäßige Zelle mit einem leeren Teil (1 Tag in Würze, 32—34° C 14 Tage).
10. Amöbenform (ähnlich wie 11a) nach dem Tode. Die zusammengeflossenen Fettbläschen treten teilweise aus der hautlosen Form hervor (1 Tag in Würze, 32—34° C 14 Tage).
- 11a—l Eine amöbenförmige Zelle wird nach und nach (in 20 Minuten) zur Kugelform. Die beigefügten Zahlen bedeuten die zwischen den einzelnen Formen vergangenen Minuten. In 11l ist die Zelle abgestorben (1 Tag in Würze aus feuchter Hefemenge bei 32—34° C 14 Tage).

Nachdruck verboten.

Eine neue Art der „Chinesischen Hefe“.

[Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium des botanischen Instituts der Kaiserl. Universität zu Tokio.]

Von K. Saito.

Mit 2 Tafeln.

Es ist schon bekannt, daß in der Stadt Shao-hing, Provinz Che-kiang in China ein alkoholisches Getränk, hergestellt wird, wo dasselbe unter dem Namen „Shao-hing-Chew“ einen wichtigen Handelsartikel bildet. Trotz den vielen Untersuchungen über die in der Technik verwerteten orientalischen Pilze existiert bislang keine wissenschaftliche Angabe über die in Frage kommende Ware. Das mir gelieferte Material war ein kleines Stück der beim Brauen hergestellten mehligten Kuchen, welche an Ort und Stelle in der Weise verwendet werden, daß man sie mit dem Reis innig mischt, wobei bald Verzuckerung und Gärung eintritt.

Der Kuchen ist aus Weizenmehl hergestellt, während die bekannten chinesischen und japanischen Hefen aus Reismehl gewonnen werden. Mein Exemplar war getrocknet und bestand aus groben, mit Weizenmehl zusammengekneteten Weizenkörnern. Im Bruche zeigen sie sich grauweiß und filzig. Die mikroskopische Untersuchung zeigt, daß dieser gefärbte Filz des Kuchens aus Schimmelpilzmycelien, in welchen man viele Gemmenzellen, zerbrochene Sporangien und Sporen sehen kann, besteht (Taf. I, Fig. 1). Aus diesem Kuchen kann man leicht verschiedene lebensfähige Schimmelpilzarten isolieren. Außer den gemeinen Formen, wie *Penicillium glaucum*, *Aspergillus glaucus*, *Asp. flavus*, *Mucor racemosus*, *Monilia* sp. und anderen, konnte ich leicht einen Reichtum an zwei kräftig stärkeverzuckernden Schimmelpilzarten konstatieren. Die letzteren sind sehr interessante, neue *Rhizopus*-Arten; für einen derselben schlage ich den Namen *Rhizopus chinensis* vor, nach der Ortschaft, wo die Art technisch verwendet wird, und für den anderen den Namen *Rhizopus Tritici*, nach dem Materiale, welches den Kuchen liefert.

Meine Untersuchungen sind jedoch an Ort und Stelle, wo der Kuchen seine technische Verwendung findet, nicht unternommen, und es ist mir unmöglich, sicher zu sagen, welche von beiden Arten die wirksamere ist. In dieser Hinsicht sind die Untersuchungen nicht ganz befriedigend. Wie dem auch sei, die hier geschilderten Arten können bei der Kultur für den Zweck der Verzuckerung wesentliche Dienste leisten.

I. *Rhizopus chinensis* nov. sp. (Hierzu Taf. I, Fig. 2—10.)

A. Morphologisches.

Der Pilz bildet sowohl auf festen wie auf flüssigen Substraten einen kurz emporwachsenden, lockeren, anfangs schneeigen, späterhin durch die dunklen Sporangien grauschwarzen bis tiefschwarzen Rasen, welcher bei üppigem Wachsen 2—3 cm hoch wird.

Die Sporangienträger sind 100—450 μ , meist aber 200—250 μ lang, gerade oder gebogen, einfach oder selten verzweigt. Die Sporangienträger sind, wie bei den bekannten *Rhizopus*-Arten, an einem Knoten des Ausläufers gemeinschaftlich mit Rhizoiden angeordnet; in diesem Falle sind sie zu 2—5, meist zu 2 an einem Knoten verteilt. Außerdem kommt zuweilen auch eine solche Verteilung der Sporangienträger vor, daß sie nahe den Rhizoiden aus beliebigen Stellen der Stolonen entspringen. Die Dicke des Stieles ist vom Grunde gegen die Spitze hin fast gleichmäßig und beträgt ca. 7—10 μ . Seine Wand ist stark bräunlich gefärbt. Selten zeigen sich eigentümliche, mehr oder minder kugelige Anschwellungen, welche wieder eine oder mehrere fadenförmige Ausstülpungen hervortreiben, die sich mit je einem Sporangium krönen können (Fig. 3, 5 und 6).

Die Sporangien sind kugelig, undurchsichtig, meist gleichmäßig groß, 50—80 μ , meist 70 μ ; in jüngeren Stadien sind sie weiß, später werden sie grau, schließlich tiefschwarz (Fig. 7). Die Spo-

rangienwand ist glatt und bei der Reife zunächst leicht zerfließend, wird aber bald hart und zerbrechlich, oft an der Basis mit kleinen Fetzen der Sporangienwand — Basalkragen. Die vollständig entwickelte Columella ist rund, oval oder schwach abgeplattet, selten birnförmig, von $30-37\ \mu$ im Durchmesser oder $23-40\ \mu$ breit und $20-55\ \mu$ lang, gelblich, graulich oder farblos, glatt, mit undeutlich ausgebildeter Apophyse; nach der Auflösung der Sporen tritt zuweilen die umgekrempelte Form auf (Fig. 8).

Die Sporen sind rundlich-oval oder selten ellipsoidisch, ziemlich gleichgroß, von $5-7\ \mu$ oder $8 \times 10\ \mu$ Durchmesser, dünn- und glattwandig. In größerer Zahl füllen sie das Sporangium dicht aus und erscheinen in großer Anhäufung grauschwarz. Die einzelnen Sporen sind aber hell und farblos oder schwach graulich (Fig. 9).

Die Gemmen kommen reichlich an den Substratmycelien vor. Sie sind von zweierlei Art, nämlich Kugelgemmen und Hyphen-gemmen; beide sind meist groß, kugelig, oval oder unregelmäßig, verhältnismäßig dünnwandig, hell und stark lichtbrechend, wesentlich dicker als die Hyphen. Ihre Größe variiert von $15-44\ \mu$. Die Keimung geht schnell vor sich; eine hefeähnliche Sprossung wurde dabei nicht beobachtet (Fig. 10). Auch Zygosporien kamen nirgends zum Vorschein.

Die Ausläufer sind dick oder zarter und größtenteils stets farblos. In ihrem Verlaufe können sie sich mehrmals verzweigen. Zunächst dem Teile, an welchem die Sporangienträger und Rhizoiden austreiben, sind die Hyphen bräunlich gefärbt und von den übrigen oft durch Querwände abgetrennt. Die Rhizoiden sind auch bräunlich oder farblos und schwach verästelt, und nur ausnahmsweise weiter (Fig. 4).

B. Physiologisches.

Von festen Substraten ist Reis als das günstigste zu nennen, auf welchem der Rasen sehr kräftig unter reichlicher Sporangienbildung emporwächst und die gedämpften Reiskörner durch die Pilzhypphen dicht umspinnen und durchwachsen werden. Weniger günstig verhält sich Gelatine und am schlechtesten Agar. In diesen letzteren beiden Nährböden nimmt der Rasen eine weiße Farbe an, infolge der spärlichen Sporangienbildung. Statt letzterer kommen in denselben sehr reichliche Gemmen vor.

Von den flüssigen Nährböden wächst der Pilz in Würze am üppigsten; anfangs entstehen submerse Mycelien, die schnell auf der Oberfläche der Flüssigkeit eine weiße Decke bilden. Die letzteren lassen, an Dicke allmählich zunehmend, die Luftmycelien emporwachsen, welche zahlreiche Sporangienträger bilden, während die submersen Mycelien auch zahlreiche Gemmen bilden. Minder günstig sind Dextrose, Maltose, Galaktose, Saccharose und am schlechtesten Laktose und Inulin¹⁾. Eine Aussaat in die zuckerhaltigen Nährlösungen ergibt ähnlich wie bei anderen Mucorineen

1) Von anderen Nährstoffen sind 0,2 Proz. KH_2PO_4 , 0,2 Proz. MgSO_4 und 1 Proz. NH_4NO_3 in der Kulturlösung vorhanden.

zuerst submerse Mycelien und aus ihnen entwickeln sich allmählich lockere oder dichte Decken, die aber auf Laktose und Inulin eine nur sehr dürftige Ausbildung erfahren.

Temperatureinfluß: Gleich allen technisch verwendeten Mucorineen entwickelt sich unser Pilz in Zimmertemperatur stets nur langsam. Dagegen wächst er bei 30–40° C so rasch und üppig, sodaß die gut ernährende Bodenfläche binnen 1–2 Tagen mit den Mycelien bedeckt wird.

Stärkeverzuckerung: Der gedämpfte Reis wird bei optimaler Temperatur in einigen Tagen von den Pilzmycelien um- und durchspinnen. Dabei beginnt der Reis sich allmählich in eine gelbliche Flüssigkeit umzubilden und durch die Fehlingsche Lösung ist die Ansammlung reduzierenden Zuckers leicht zu konstatieren. In alten Kulturen wird ein angenehm esterartig riechender Stoff gebildet; dieselbe Erscheinung ist schon durch die Untersuchungen Wehmers an *Mucor piriformis* Fisch.¹⁾ und M. Rouxii Wehm.²⁾ bekannt geworden.

Gärungserscheinungen: Unter der in Würze vegetierenden Myceldecke sammeln sich bei 37° C schon nach 1–2 Tagen einige große Gasblasen an. Das Destillat aus 10-tägiger Kulturflüssigkeit roch stark geistig und enthielt eine mittelst der Jodoformprobe nachweisbare Alkoholmenge, die nach Berechnung mit Hilfe des Gay-Lussacschen Alkoholmeters nur 2 Proz. ergab. In Versuchen mit Dextrose, Saccharose, Maltose, Galaktose und anderen Zuckerarten traten Gasblasen nicht auf; auch ruft der Pilz in denselben keine Alkoholbildung hervor³⁾.

Gelatineverflüssigung: Die Gelatineverflüssigung tritt bei Zimmertemperatur sehr langsam ein und der Beginn einer solchen konnte auf der Strichlinie erst nach wochenlanger Dauer der Kultur nachgewiesen werden. Durch höhere Temperatur wird dieser Vorgang jedoch stark begünstigt.

C. Diagnose.

Dieser Pilz ist von allen bekannten Arten leicht zu unterscheiden, also neu.

Rasen locker, niedrig, grau bis schwarz; Hyphen farblos, nahe den Rhizoiden aber bräunlich. Rhizoiden wenig verästelt, farblos bis braun.

Sporangienträger zusammen mit den Rhizoiden an einem Knoten oder gewöhnlich nahe denselben und etwas entfernt voneinander, klein, steif, gerade oder gebogen, meist einfach, bräunlich gefärbt. Sporangien anfangs weiß, später schwarz, kugelig, undurchsichtig. Sporangienwand glatt, leicht zerbrechlich. Columella rund, oval oder etwas abgeplattet, selten birnförmig, glatt, farblos, gelblich oder auch graulich, oft mit Basalkragen. Sporen meist gleichgroß, kugelig-oval, selten ellipsoidisch, hellgrau, glänzend, glattwandig.

1) Wehmer, C., Ueber einige; weitere freie Zitronensäure bildende Pilze. (Chemiker-Zeitung. 1897. No. 98.)

2) Derselbe, Die „Chinesische Hefe“ und der sogenannte *Amylomyces*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. p. 353.)

3) Ueber die Säurebildung s. p. 158.

Gemmen reichlich, verschieden groß, kugelig, oval oder unregelmäßig, farblos, dünnwandig und stark lichtbrechend. Zygosporien und Kugelhefe fehlen.

Vorkommen: Im Weizenmehlkuchen aus der Stadt Shao-hing, Provinz Che-kiang, China.

Wächst bei 15° C langsam auf festen und flüssigen Nährsubstraten, schneller bei 30–40° C (optimale Temperatur), verzuckert Stärke unter gleichzeitiger Bildung von Alkohol und Fruchtester, verflüssigt Gelatine, entwickelt in Würze Gasblasen, dagegen nicht in zuckerhaltigen Nährlösungen.

Größenverhältnisse:

Höhe der Kultur	2–3 cm
Sporangienträger	{ Höhe 100–450 μ , meist 200–250 μ
	{ Dicke 7–10 μ
Sporangien Durchmesser	50–80 μ , meist 70 μ
Columella	{ 30–37 μ (rund)
	{ 23–40 μ \times 20–55 μ (oval)
Sporengröße	{ 5–7 μ (rund)
	{ 8 \times 10 μ (ellipsoidisch)
Gemmengröße	15–44 μ

II. *Rhizopus Trittlei* nov. sp. (Hierzu Taf. II.)

A. Morphologisches.

Ein üppig wachsender Rasen ist anfangs schneeweiß und wird allmählich dunkler, schließlich tiefschwarz; er ist locker und erreicht eine Höhe von 2–5 cm.

Die Anordnung der Sporangienträger an den Ausläufern ist sehr variabel. Sie sind entweder büschelig an einem Knoten, wie bei den bekannten *Rhizopus*-Arten, angeordnet, oder an beliebigen Stellen des Ausläufers, gewöhnlich in der Nähe von Rhizoiden, verteilt, wie bei *Mucor Cambodja*¹⁾ (Fig. 4). Außerdem kommen auch einfache, gabelig oder wirtelig verästelte, längere Träger vor. Zuweilen zeigen sich eigentümliche kugelige Anschwellungen; aus diesen wiederum treiben eine oder mehrere fädige Ausstülpungen hervor, welche mit je einem Sporangium endigen (Fig. 5). Der Stiel ist von sehr wechselnder Länge, 500 μ bis 1 mm oder darüber, gerade oder gebogen, braun gefärbt und 10 μ dick.

Die Sporangien sind in der Jugend schneeweiß, später im reifen Zustande tief schwarzbraun, kugelig, aufrecht und von verschiedener Größe, 85–210 μ (Fig. 6). Die Sporangienwand ist anfangs leicht zerfließend, nachher hart und zerbrechlich, mit feinen oder groben Kristallnadeln bedeckt (Fig. 8 und 9). Nach dem Zerfalle der Wand bleibt oft ein deutlicher Kragenrest zurück. Die Columella ist groß, aufsitzend, mit der breiten Apophyse kugelig oder eiförmig, von 8–12 μ im Durchmesser oder 7–9,5 μ breit und 8–11,5 μ lang, anfangs farblos, später mehr oder minder gelbbraun, glatt, und nach Auflösung der Sporen nimmt sie auf dem Sporangienträger die Regenschirmform an (Fig. 7).

¹⁾ Chrzaszcz, I., Die „Chinesische Hefe“. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. p. 326.)

Die Sporen sind kugelig-oval, von gleicher Größe, 5–6 μ , in großer Masse schwarzgrau oder schwarzbraun, die einzelne Spore hellgrau oder bräunlich, gestreift, dickwandig. In einigen Kulturen, besonders bei älteren, treten auch größere runde oder eckige Formen auf, sowie eine eigenartige Verwachsung der Sporen (wie bei *Mucor Cambodja*), welche dabei amöbenartige Formen annehmen können (Fig. 10).

Die Gemmen, unter denen wir Kugel- und Hyphengemmen unterscheiden können, kommen an Substratmycelien reichlich vor. Sie sind groß, relativ dünnwandig, farblos, hell und stark lichtbrechend, kugelig, oval, länglich u. s. w., von verschiedener Größe, 19–55 μ (Fig. 11). Sowohl hefeähnliche Sprossung der Gemmen als auch Zygosporien wurden in den Kulturen nicht beobachtet.

Die Ausläufer sind relativ dick und zum größeren Teil stets farblos. In ihrem Verlaufe können sie sich gabelig, wirtelig oder büschelig verzweigen (Fig. 2). Nächste der Stelle, wo die Sporangienträger und Rhizoiden hervortreten, ist die Mycelienwand stark bräunlich gefärbt. Beim Berühren des Ausläufers mit der Wand des Kulturgefäßes bilden sich mehr oder minder verästelte Rhizoiden (Fig. 3), woraus wieder weiteres Wachstum hervortreten kann.

B. Physiologisches.

Diese Art bildet auf Reis, Gelatine und Würze vegetationskräftige Rasen und wächst erheblich über die Oberfläche des Substrates empor. Die Entwicklung ist in Dextrose, Maltose, Stärkekleister, Saccharose und Galaktose minder kräftig und in Laktose und Inulin nur spärlich.

Die optimale Temperatur für das Wachstum liegt zwischen 30° und 35° C; bei 40° C wächst der Pilz sehr träge. Durch diesen Pilz wird die Gelatine, in welcher Sporangien reichlich auftreten, stets langsam verflüssigt.

Der gedämpfte Reis wird schnell von den Pilzmycelien um- und durchspinnen, wobei bald eine Verflüssigung des Substrates eintritt und durch Fehlingsche Lösung läßt sich leicht das Entstehen reduzierenden Zuckers konstatieren. Die Reiskulturen rochen später auch schwach geistig.

In Würzekulturen begegnet man stets einer Gasentwicklung, nebenbei auch einer nachweisbaren Menge Alkohol. In zuckerhaltigen Nährlösungen treten jedoch weder Gasblasen noch Alkohol auf.

Zur Feststellung von Säurebildung habe ich einen Parallelversuch in Würze angestellt, und zwar habe ich in einem Kolben *Rhizopus chinensis*, in einem anderen *R. Tritici* bei 35° C 10 Tage wachsen lassen. Es zeigte sich folgendes Ergebnis:

	Säure in 100 ccm Flüssigkeit
<i>Rhizopus chinensis</i>	42,0 $\frac{1}{10}$ NaOH
<i>Rhizopus Tritici</i>	39,9 $\frac{1}{10}$ "
Würze (Kontrolle)	19,2 $\frac{1}{10}$ "

In beiden Kulturen war nur feste Säure entstanden, deren Natur noch unentschieden bleibt.

Die Reiskulturen wurden nicht selten von einem parasitischen Hyphenpilze befallen, der meist auf den Sporangien vorkommt. Die systematische Stellung dieses Schmarotzers ist von mir noch nicht näher verfolgt.

C. Diagnose.

Sporangienrasen locker, anfangs schneeweiß, später grau bis schwarz. Die Ausläufer verzweigen sich gabelig, wirtelig u. s. w. Rhizoiden mehr oder minder verästelt, farblos bis braun.

Sporangienträger im allgemeinen von dreierlei Art; entweder kürzere, an Knoten büschelig gestellte, einfache oder bald einfache, bald verzweigte Träger an beliebigen Stellen des Ausläufers, gewöhnlich nahe den Rhizoiden oder längere, bald einfache, bald regelmäßig verzweigte. Alle Sporangienträger mehr oder minder bräunlich, manchmal mit kugeligen eigentümlichen Anschwellungen.

Sporangien jung schneeweiß, später bräunlich bis tief schwarzbraun, kugelig, verschieden groß, aufrecht. Sporangienwand anfangs leicht zerfließend, nachher aber erhärtend und brüchig werdend, mit Kristallnadeln bedeckt. Columella groß, aufsitzend, mit der Apophyse gewöhnlich kugelig oder eiförmig, anfangs farblos, später gelbbraun, glattwandig und oft mit Basalkragen.

Sporen gleichgroß, in größerer Masse schwarzgrau oder schwarz, braun, vereinzelt hellgrau oder bräunlich, gestreift, kugelig-oval in alten Kulturen rundlich-eckig oder amöbenartig verwachsen.

Gemmen („Hyphengemmen“ und „Kugelgemmen“) farblos, verhältnismäßig dünnwandig, hell und stark lichtbrechend, von verschiedener Größe, kugelig, oval bis länglich. Zygosporen und sogenannte „Kugelhefen“ fehlen.

Vorkommen: Im Weizenmehlkuchen aus der Stadt Shao-hing, Provinz Che-kiang, China.

Wächst gut auf Reis und Würze, verzuckert Stärke unter Alkoholbildung, bildet in Würze Gasblasen, dagegen nicht in Dextrose, Saccharose, Maltose und Galaktose. Schlechtes Wachstum auf Inulin und Laktose. Optimale Temperatur 30—35° C. Gelatineverflüssigung langsam.

Größenverhältnisse:

Höhe der Kultur	2—5 cm
Sporangienträger	{ Höhe 500 μ bis 1 mm
	{ Dicke 10 μ
Sporangien Durchmesser	85—210 μ
Columella	{ 8—12 μ (rund)
	{ 7—9,5 \times 8—11,5 μ (oval)
Sporengröße	5—6 μ
Gemmengröße	19—55 μ

D. Affinität.

Wenn wir alle geschilderten Merkmale zusammenfassen und mit denen der bislang bekannten Arten vergleichen, so nimmt unsere Art eine Mittelstellung ein zwischen *Rhizopus Oryzae*

Went et Prinsen Geerligs¹⁾ und *Mucor Cambodja* Chrzaszcz²⁾ (*Rhizopus Cambodja* Vuillemin³⁾). Von der ersteren Art unterscheidet sich *R. Tritici* dadurch, daß er die an beliebigen Stellen der Stolonen entspringenden Sporangienträger und die an den Sporangienträgern vorkommenden eigentümlichen Anschwellungen und die gestreiften und amöbenartig verwachsenen Sporen bildet, während diese Merkmale bei *R. Oryzae* fehlen. Bei der letzteren Art, *Mucor Cambodja*, kommen die an einem Knoten büschelig hervortretenden Sporangienträger und rauhwandige Sporangien⁴⁾ nicht vor, dagegen wurden diese Merkmale bei *R. Tritici* in jeder Kultur beobachtet.

Am Schlusse spreche ich Herrn Prof. Dr. Miyoshi, unter dessen Leitung diese Untersuchungen vor sich gingen, meinen verbindlichsten Dank aus. Herrn J. Takanō, Privatdozenten an der technischen Hochschule zu Tokio, bin ich für die Freundlichkeit, mit welcher er mir das Untersuchungsmaterial gesandt hatte, ebenfalls zu bestem Dank verpflichtet.

Mai 1904.

Tafelerklärung.

Tafel I.

Fig. 1. Mikroskopisches Präparat aus dem Kuchen mit Pilzelementen und Weizenstärkekörnchen (schwach vergrößert).

Fig. 2–10. *Rhizopus chinensis* n. sp.

Fig. 2. Sporangienträger in Lupenvergrößerung (Reiskultur).

Fig. 3 (× 125) (a–g). Verschiedene Formen der Anordnung der Sporangienträger (Reiskultur).

Fig. 4 (× 400). Verschiedene Formen der Rhizoiden, bei *sp* Sporangienträger, bei *Rh* Rhizoiden (Reiskultur).

Fig. 5 (× 400). Sporangienträger, ein wenig voneinander entfernt.

Fig. 6 (× 125) (a–f). Verschiedene Formen der verzweigten Sporangienträger, bei *an* Anschwellungen (Reiskultur).

Fig. 7 (× 400). Sporangium (Reiskultur).

Fig. 8 (× 400) (a–k). Verschiedene Formen der Columella; *a, f* birnförmige, *b, g* ovale, *d, c* runde, *c* schwach abgeplattete, *h, i, j* verzweigte, *k* umgekrempte (Reiskultur).

Fig. 9 (× 560). Sporen, eine derselben in Keimung begriffen (Reiskultur).

Fig. 10 (× 400). Gemmen aus Würzekultur.

Tafel II.

Fig. 1–11. *Rhizopus Tritici* n. sp.

Fig. 1. Sporangienträger in Lupenvergrößerung (Reiskultur).

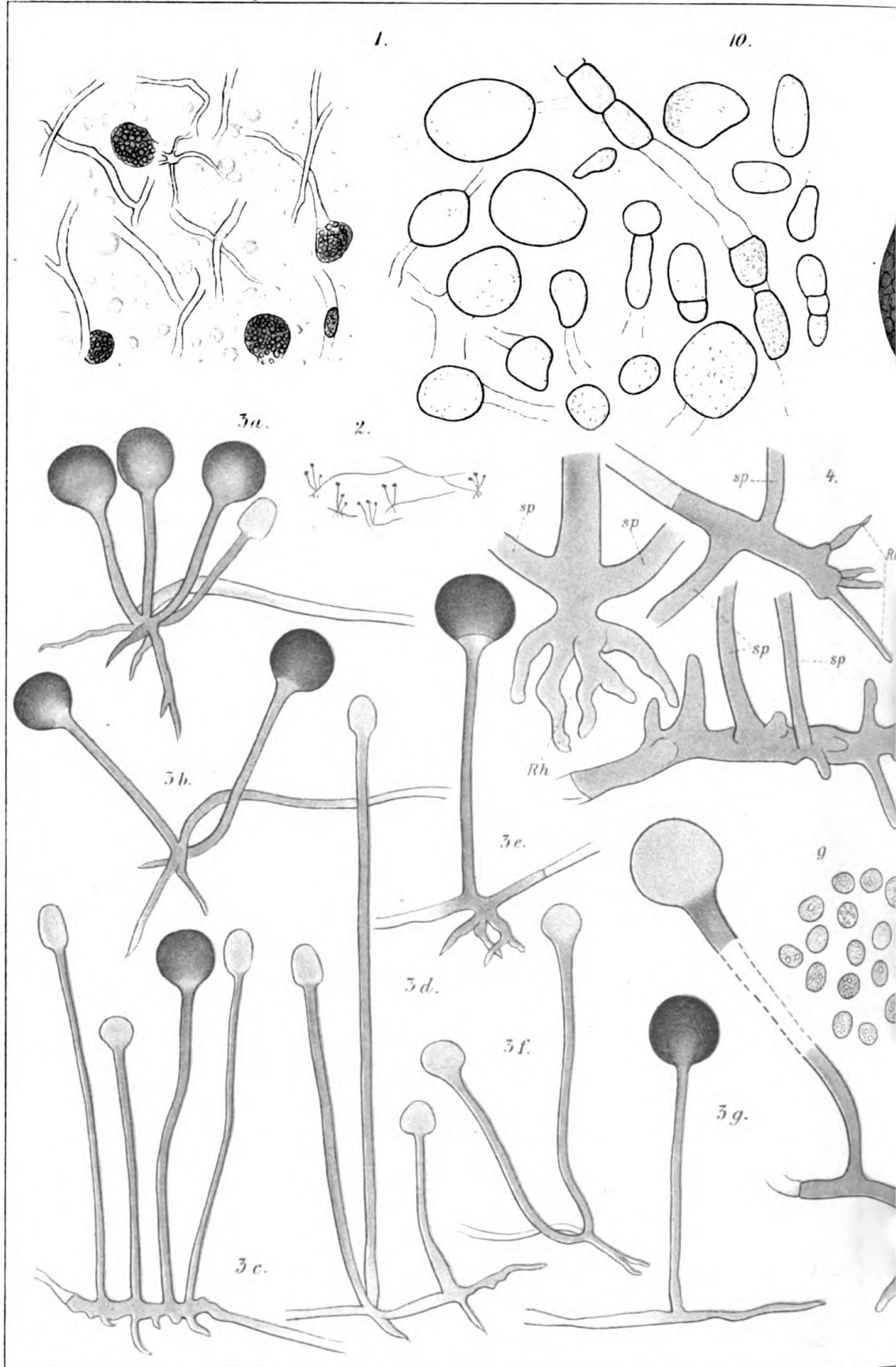
Fig. 2 (× 125). Verzweigungsformen der Stolonen (Reiskultur). }

1) Went und Prinsen Geerligs, Verhandelingen d. koninkl. Akad. v. Wetenschappen t. Amsterdam. Ser. II. T. IV. 1895. No. 2. — Wehmer, C., Der javanische Ragi und seine Pilze. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. p. 313.)

2) Chrzaszcz, I., Die „Chinesische Hefe“. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. p. 326.)

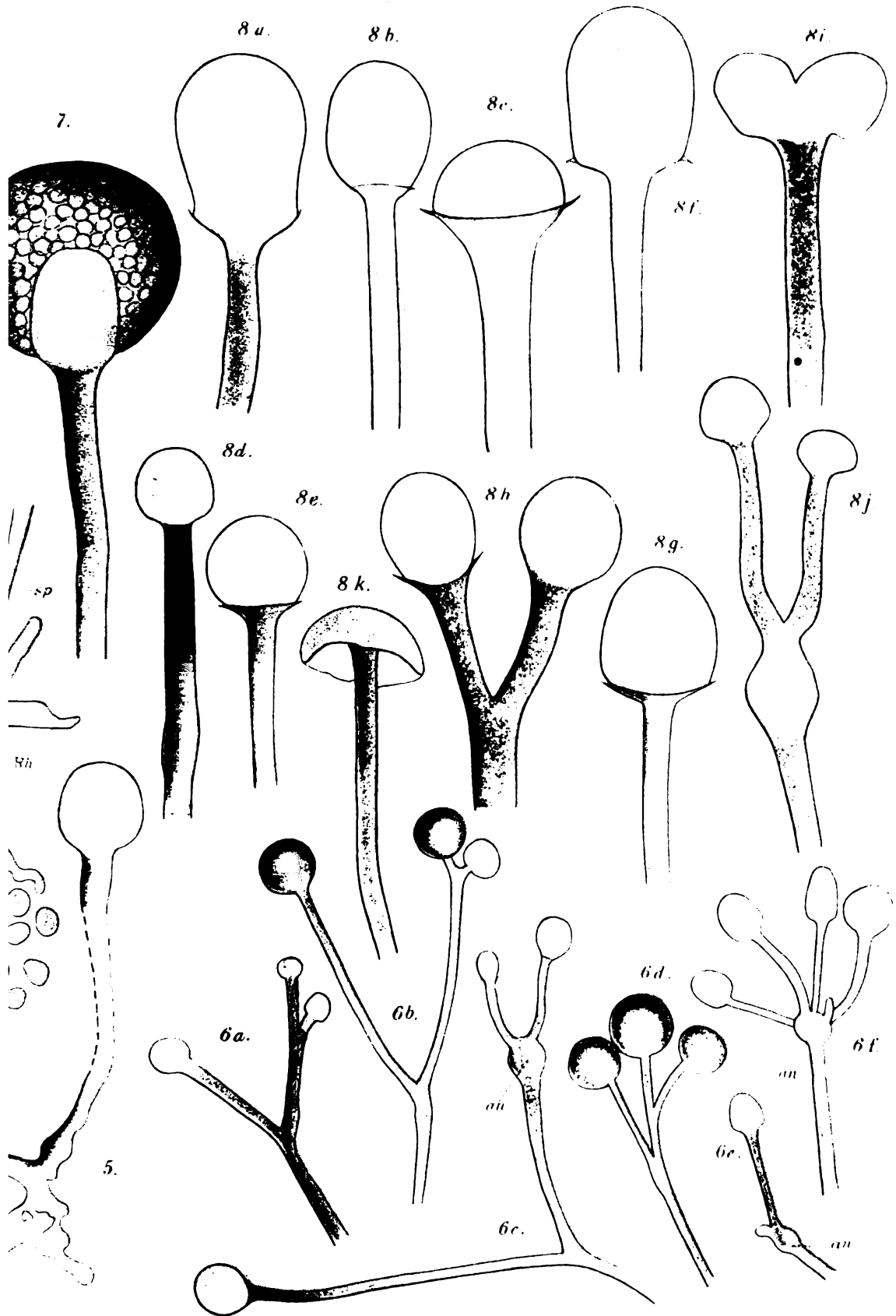
3) Vuillemin, P., Recherches sur les Mucorinées saccharifiantes (Amylomyces). Deuxième Partie. Série des Rhizopus. Revue Mycologique. T. XXIV. No. 94. 1902. p. 45–60. (Ref. im Bot. Centralbl. Bd. XC. 1902. p. 159 und Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. p. 409.)

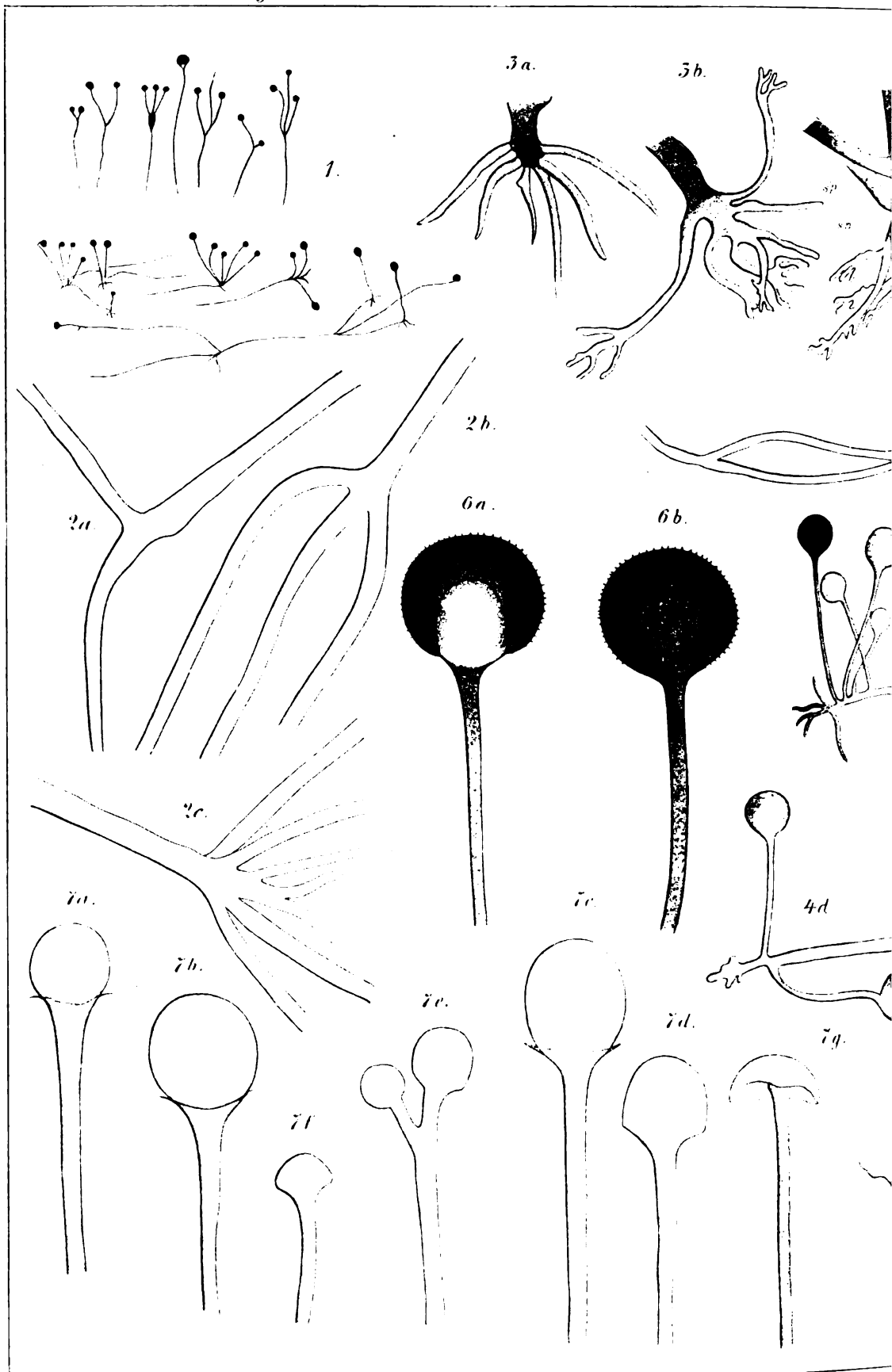
4) Nach Went (l. c.) ist die Sporangienwand von *R. Oryzae* meist mit kleinen Oxalatkristallen besetzt. Entgegen dieser Angabe fand Wehmer (l. c.) stets glatte Sporangienwand.



K. Saito gez.

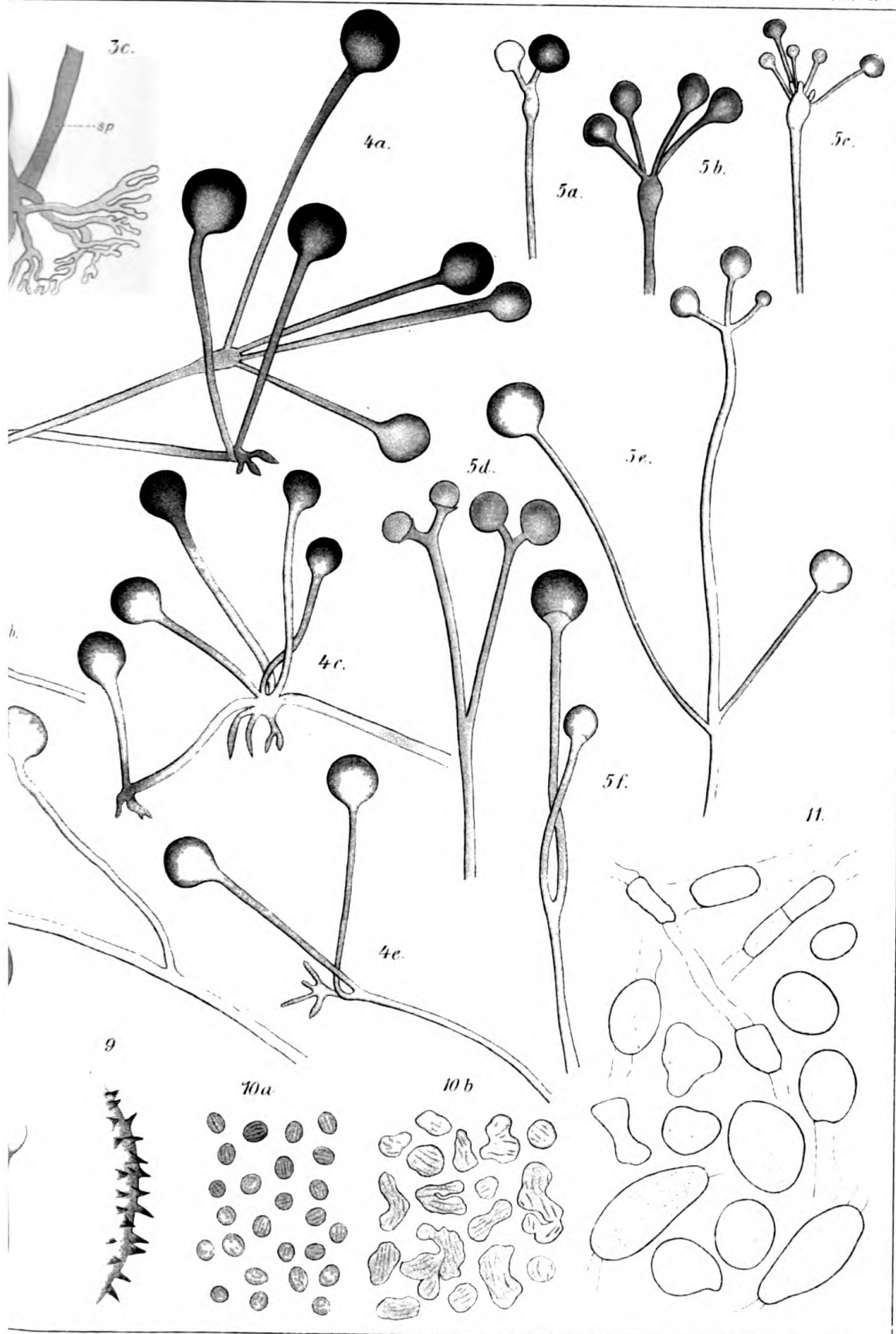
Verl. v. Gustav





5. 5000. 47

5. 5000. 47



Dr. J. Saito

Lith. Anst. v. J. Arndt, Jena

Fig. 3 ($\times 125$) (a—c). Verschiedene Formen der Rhizoiden, bei *sp* Sporangienträger (Reiskultur).

Fig. 4 ($\times 52$) (a—e). Anordnung der Sporangienträger an den Stolonen (Reiskultur).

Fig. 5 ($\times 52$) (a—f). Verzweigte Sporangienträger, a, b und c mit den Anschwellungen (Reiskultur).

Fig. 6 ($\times 52$) (a—b). Sporangien (Reiskultur).

Fig. 7 ($\times 125$) (a—g). Columella (Reiskultur).

Fig. 8 ($\times 125$). Ein Teil der zerbrochenen Sporangienwand, ohne Columella (Reiskultur).

Fig. 9 ($\times 560$). Ein Teil der Sporangienwand mit Kristallnadeln (Reiskultur).

Fig. 10 ($\times 560$). Sporen; a junge, b alte (Reiskultur).

Fig. 11 ($\times 400$). Gemmen aus Würzekultur.

Nachdruck verboten.

Studien über die flüchtigen Fettsäuren im Käse nebst Beiträgen zur Biologie der Käsefermente.

Von Dr. Orla Jensen,

Vorstand der schweizerischen milchwirtschaftlichen Versuchsanstalt.

Obwohl allgemein angenommen wird, daß Geruch und Geschmack der verschiedenen Käsesorten in hohem Grade von gewissen flüchtigen Fettsäuren beeinflusst werden, liegen doch bis jetzt keine Arbeiten vor, welche diese Frage eingehend behandelt haben. Selbst Duclaux, dessen geniale Untersuchungen so viel Licht über den Käsureifungsprozeß verbreitet haben, und der eine vorzügliche Methode zur Trennung der flüchtigen Fettsäuren ausgearbeitet hat, begnügt sich mit der Bestimmung der Gesamtmenge dieser Säuren. In „Le Lait“. 1894, p. 267—268, schreibt Duclaux folgendes über die flüchtigen Fettsäuren im Käse:

„Ces acides peuvent avoir une double origine. Ils proviennent soit de l'action des microbes sur la caséine, soit de la saponification des corps gras sous l'influence du temps, de la lumière et de l'alcalinité de la masse. Ils forment en général, à cause de cette double origine, un mélange compliqué dont on peut, si on veut, rechercher les éléments à l'aide de la méthode des distillations fractionnées sur laquelle j'ai assez insisté pour n'avoir pas besoin d'y revenir. Mais d'ordinaire, on peut se contenter de chercher seulement la quantité totale de ces acides, évaluée en acide butyrique, qui est l'acide le plus important d'ordinaire et le plus fréquemment présent.“

Duclaux meint also, daß die flüchtigen Säuren im Käse hauptsächlich aus Buttersäure bestehen, und daß letztere teils von der Fettspaltung, teils von der Zersetzung des Kaseïns herrührt. Von vornherein dürfte man wohl mit ebensoviel Recht noch eine dritte im Käse vorkommende Quelle zur Bildung von Buttersäure, nämlich den Milchzucker oder die daraus entstandene Milchsäure, beifügen. Es ist indessen niemals bewiesen worden, daß die im Käse vorkommenden flüchtigen Säuren wirklich zum größten Teil Buttersäure sind, und auch nie, daß letztere Säure in größerer

Menge im Käse auftritt als von der Fettspaltung herrühren kann. So lange hierfür noch kein Beweis geleistet worden ist, bleiben alle Versuche, die Käsereifung mit einer Buttersäuregärung in Verbindung zu bringen, nur Hypothesen.

Bereits Ferdinand Cohn¹⁾, der als erster im Jahre 1875 die Käsereifung mit der Lebenstätigkeit der Bakterien in Zusammenhang brachte, huldigte solchen Hypothesen, und in der neueren Zeit ist die Bedeutung der Buttersäurefermente für die Käsereifung von Baier, v. Klecki und Weigmann verfochten worden.

Baier²⁾ nimmt an, daß Buttersäurefermente sich an der Bildung des Käsearomas beteiligen, ja vermutet sogar, daß gewisse Buttersäurefermente den Reifungsprozeß ins Leben rufen können.

v. Klecki³⁾ findet im Quargelkäse einen beweglichen Buttersäurebacillus, den er *Bacillus saccharobutyricus* nennt, weil dieser Milchzucker direkt zu Buttersäure vergärt, und er glaubt auf Grund seiner Versuche behaupten zu können, daß sein Bacillus oder ähnliche Formen an der Reifung und Lochung des Quargelkäses, sowie namentlich an der in diesen Käsen auftretenden Buttersäurebildung beteiligt ist.

Weigmann⁴⁾ schreibt einem von ihm in verschiedenen Käsen gefundenen Buttersäureferment, *Paraplectrum foetidum*, eine Rolle bei der Käsereifung oder wenigstens bei der Reifung von Limburgerkäse zu, weil es in Milchkulturen einen an letztere Käsesorte erinnernden Geruch hervorruft.

Diese Arbeiten beweisen indessen nichts anderes, als daß Buttersäurefermente in den verschiedenen Käsesorten anzutreffen sind, was eine alte Tatsache ist, indem man schon von früher her Käse gebraucht hat, um eine Buttersäuregärung einzuleiten. Ob die Buttersäurefermente sich im Käse wirklich vermehren, hat dagegen noch niemand bewiesen, im Gegenteil sprechen die neueren bakteriologischen Untersuchungen ebenso wenig für eine Beteiligung obligat anaërober Buttersäurefermente an der Käsereifung wie für eine Beteiligung aërober Heubacillen, „*Tyrothrix*-Arten“. Die Bakterien dieser zwei Gruppen werden nämlich so selten im Käse gefunden, daß sie sehr gut nur von der Milch herrührende Sporen sein könnten. Die Hauptmenge aller Bakterien im Käse sind Milchsäurefermente, und dieselben spielen auch nach v. Freudenreich⁵⁾ die Hauptrolle bei der Reifung der Emmentalerkäse.

Wie aus einer Arbeit von v. Freudenreich und mir⁶⁾ hervorgeht, besteht die Tätigkeit der Milchsäurefermente bei der Reifung der Hartkäse wesentlich darin, daß sie Eiweißzersetzungsprodukte bilden, währenddem die Ueberführung des Kaseins in

1) Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. I. p. 191.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. 1895. p. 119.

3) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. 1896. p. 169, 250, 286.

4) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. 1896. p. 150, 207, und Bd. IV. 1898. p. 820.

5) Unter den zahlreichen von Freudenreich in dieser Zeitschrift publizierten Arbeiten über die Käsereifung siehe besonders Bd. III. 1897. p. 231, und Bd. VIII. 1902. p. 674, 705, 735.

6) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 12, 38, 72, 112, 140.

lösliche Proteinstoffe eher anderen Faktoren, entweder anderen Bakterien oder dem natürlichen Milchenzym, der Galaktase, oder dem mit dem Labe zugesetzten Pepsin zuzuschreiben ist. Da die Milchsäurefermente indessen, wie wir später sehen werden, nur in fast neutralem Nährboden das Kasein zersetzen können, so werden in den Käsen gewöhnlich um so weniger Eiweißzersetzungsprodukte gebildet, je saurer sie von Anfang an sind. Eine Ausnahme bilden jedoch die Käse, an deren Reifung Schimmelpilze sich beteiligen, denn die Schimmelpilze können auch das Kasein tief zersetzen (s. Tabelle I). Während die Milchsäurefermente also das Kasein abbauen können, kommt nach den Arbeiten von Graßberger und Schattenfroh¹⁾ nur wenigen Buttersäurefermenten diese Eigenschaft zu²⁾. Vom chemischen Gesichtspunkte aus ist es daher auch wenig wahrscheinlich, daß die Buttersäurefermente die Käsereifung ins Leben rufen; ob sie dagegen durch Erzeugung von Buttersäure und anderen stark riechenden Stoffen zur Bildung von Käsearoma beitragen, darf man nicht ohne weiteres abweisen. Die bakteriologischen Untersuchungen geben freilich, wie erwähnt, keinen Anhalt für diese Annahme, aber andererseits läßt es sich nicht leugnen, daß Käse gute Bedingungen für die Entwicklung der Buttersäurefermente (wie schwierigen Luftzutritt, reichliche Menge Stickstoffnahrung und milchsaure Salze) zu bieten scheinen. Eine Lösung vorliegender Frage läßt sich nur durch eine nähere Kenntnis der spezifischen Geruchs- und Geschmacksstoffe der verschiedenen Käsesorten und speziell der darin vorkommenden flüchtigen Fettsäuren erreichen. Wir werden daher auch diesen Weg einschlagen.

Bei dem Geschmack der Käse spielt natürlicherweise das Kochsalz eine große Rolle; da dasselbe indessen kein Gärungsprodukt ist, werden wir im folgenden völlig von ihm abstrahieren. Ferner darf man nicht vergessen, daß die Geschmacksempfindungen sich nur schwierig von den Tastempfindungen des Gaumens und der Zunge unterscheiden lassen, weshalb der Fettgehalt, der Wassergehalt und ganz besonders die Konsistenz des Käses alles Faktoren sind, die wir von den eigentlichen Geschmacksempfindungen nicht trennen können. Ein gutes Beispiel in dieser Hinsicht bildet die übliche Ausdrucksweise, „daß guter Emmentalerkäse Nußkerngeschmack haben muß“. Wenn wir Emmentalerkäse kauen, so empfinden wir den Geschmack von etwas Süßlichem, wie beim Kauen eines Nußkerns; diese Ähnlichkeit allein hätte jedoch niemanden auf den Gedanken geführt, Emmentalerkäse mit Nußkern zu vergleichen, wenn nicht auch zwei Tastempfindungen, nämlich das Gefühl von etwas Trockenem und von etwas Fettem, welche für Nußkerne so charakteristisch sind, sich dazu gesellt hätten.

Um uns zum voraus ein wenig darüber zu orientieren, welche Geruch- und Geschmacksstoffe wir im Käse erwarten dürfen, wollen wir einen Blick auf die während der Käsereifung vor sich gehenden möglichen Zersetzungen der Hauptbestandteile der frischen

1) Archiv f. Hygiene. Bd. XLVIII. 1904. p. 1.

2) *Paraplectrum foetidum* wirkt, wie wir später sehen werden, lösend auf das Kasein ein.

Käsemasse, des Parakaseïns, des Milchlvettes und des Milchzuckers werfen.

Die wichtigsten dieser Zersetzungen sind diejenigen des Parakaseïns. Bekanntlich erleidet ein Teil dieses in Wasser unlöslichen Stoffes während der Käsereifung mehr oder weniger tiefgehende Veränderungen, wodurch die Käsemasse teilweise löslich wird und ein verändertes Aussehen bekommt. Nach den amerikanischen Forschern van Slyke und Hart¹⁾ fangen in Cheddarkäse diese Veränderungen damit an, daß die aus dem Milchzucker gebildete Milchsäure sich mit dem Parakaseïn zu einem in 5-proz. Salzwasser und in 50-proz. Alkohol löslichen, aber in Wasser unlöslichen Salz verbindet. In der Tat zeigen diese Forscher, daß in 24 Stunden alten Cheddarkäsen 40--78 Proz. des Stickstoffes in Salzwasser löslich sind, in Wasser dagegen nur 6 Proz. Im Laufe der Reifung ändert sich dieses Verhältnis fortwährend, die Löslichkeit in Salzwasser nimmt ab und die Löslichkeit in Wasser nimmt zu; so waren z. B. in einem 9 Monate alten Cheddarkäse nur 13 Proz. des Stickstoffes in Salzwasser gegen 53 Proz. in Wasser löslich. Diese Forscher machen auch darauf aufmerksam, daß die durch das Salzen hervorgerufene schmierige Beschaffenheit der Oberfläche eines jungen Käses der Löslichkeit des milchsauren Parakaseïns in Salzwasser zuzuschreiben ist. Ob auch bei Emmentalerkäsen ein solches milchsaures Parakaseïnsalz in merkbarer Menge entsteht, ist noch nicht untersucht worden, es ist aber wenig wahrscheinlich, weil man leicht berechnen kann, daß die Milchsäuremenge, die im Emmentalerkäse entsteht, nicht einmal ausreicht, um den Kalk des Parakaseïns zu binden und die tertiären und sekundären Phosphate in primäre überzuführen. Das erste Umbildungsprodukt des Parakaseïns, das man in Emmentalerkäsen antrifft, ist das von Weidmann²⁾ gefundene und von Röse und Schulze³⁾ näher studierte Kaseoglutin. Auch dieses ist, wie das milchsaure Parakaseïn, in Wasser unlöslich und in verdünntem Alkohol löslich, aber unterscheidet sich vom letzteren durch Unlöslichkeit in Salzwasser. Gleichzeitig mit dem Kaseoglutin werden wasserlösliche Eiweißstoffe und eine geringe Menge Pepton gebildet. Aus diesen Stoffen oder direkt aus dem Parakaseïn entstehen nach und nach eine ganze Reihe von Eiweißzersetzungsprodukten bis zum Ammoniak. Unter diesen haben Benecke und Schulze⁴⁾ bereits Leucin, Tyrosin und Phenylalanin gefunden, und in neuerer Zeit sind von Steinegger⁵⁾, Thöni und ganz besonders von Winterstein⁶⁾ Glykokoll, Alanin, Aminovaleriansäure, Pyrrolidin-

1) New-York Agricultural Experiment Station. Bulletin. No. 214. 1902.

2) Untersuchungen über die Zusammensetzung und den Reifungsprozeß des Emmentalerkäses. (Landw. Jahrbücher. Bd. XI. 1882. p. 587.)

3) Ueber einige Bestandteile des Emmentalerkäses. (Landw. Versuchstationen. Bd. XXXI. 1885. p. 115.)

4) Untersuchungen über die Emmentalerkäse und über einige andere schweizerische Käsearten. (Landw. Jahrbücher. Bd. XVI. 1887. p. 317.)

5) Die Salzsteine, ihre chemische Zusammensetzung, Bildung und Verhütung. (Landw. Jahrbuch d. Schweiz. Bd. XV. 1901. p. 132.)

6) Beiträge zur Kenntnis der Bestandteile des Emmentalerkäses. (Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXXVI. 1902. p. 28, und Bd. XLI. 1904. p. 485.)

karbonsäure, Asparaginsäure, Tryptophan, Histidin, Lysin, Putrescin, Cadaverin, Guanidin und Bernsteinsäure nachgewiesen worden. Von diesen Stoffen zeichnet das Ammoniak sich dadurch aus, daß es selbst in unwägbaren Mengen auf die Schleimhäute unserer Nase einen starken Eindruck macht, weshalb es, besonders für die Weichkäse, als einer der allerwichtigsten Riechstoffe angenommen werden muß. Auch Putrescin und Cadaverin sind im Besitze eines eigentümlichen Geruches. Der süßliche Geschmack des Emmentalerkäses rührt ohne Zweifel von den niedrigen Monoaminosäuren (Glykokoll, Alanin und Aminovaleriansäure) her, jedenfalls habe ich stets konstatieren können, daß beim Emmentalerkäse der charakteristische Nußkerngeschmack sich stets mit dem Gehalte an mit Phosphorwolframsäure nicht fällbaren N-haltigen Substanzen steigert. Von Eiweißzersetzungsprodukten, die sich durch einen deutlichen Geruch auszeichnen, ist noch die Isovaleriansäure zu erwähnen, deren Anwesenheit im Limburgerkäse schon 1845 von P. Iljenko und N. Laskowsky¹⁾ festgestellt wurde. Auch könnte ein Teil der im Käse vorkommenden Butter- und Capronsäure aus dem Parakasein entstanden sein.

Vom ursprünglichen Molkengehalt der Käse hängt vor allem ihre Konsistenz und ihr Säuregrad ab, und mit letzterem auch die Richtung der Reifung. Je nachdem die Umbildung des Parakaseins fast gleichmäßig durch die ganze Masse vor sich geht oder in der Hauptsache von außen nach innen schreitet, und die Käsoberfläche demnach hart oder weich ist, werden die Käse Hartkäse oder Weichkäse genannt.

Um ein charakteristisches Bild von den Umwandlungen des Parakaseins bzw. des Kaseins während der Reifung einiger allgemein bekannten Käsesorten zu erhalten, werde ich in der folgenden Tabelle einige meiner diesbezüglichen Analysen anführen. Die untersuchten Käsesorten waren:

- 1) Emmentalerkäse, als Repräsentant der stark nachgewärmten (d. h. molkenarmen) Hartkäse.
- 2) Edamerkäse und schweizer. Magerkäse, als Repräsentanten der wenig nachgewärmten (d. h. molkenreicheren) Hartkäse.
- 3) Roquefortkäse, als Repräsentant der Käse, deren Reifung unter Mitwirkung von Schimmelpilzen im Inneren vor sich geht.
- 4) Brie- und Camembertkäse, als Repräsentanten der Weichkäse, deren Reifung unter Mitwirkung von Schimmelpilzen an der Oberfläche stattfindet.
- 5) Backsteinkäse nach Limburgerart bereitet (Schmierkäse), als Repräsentant der Weichkäse, bei deren Reifung die Mitwirkung von Schimmelpilzen nicht notwendig ist.
- 6) Und endlich Glarner Schabzieger, als Repräsentant eines Quargkäses.

Um die Umbildung des Parakaseins zu charakterisieren, hat Bondzynski²⁾ die Begriffe „Umfang und Tiefe“ der Käsereifung

1) Ueber die flüchtigen Säuren im Käse. (Liebig's Annalen. Bd. LV. 1845. p. 78.)

2) Zur Kenntnis der chemischen Natur einiger Käse. (Landw. Jahrbuch d. Schweiz. 1894. p. 189.)

eingeführt, womit er die Menge der wasserlöslichen stickstoffhaltigen Substanzen, die während des Reifungsprozesses gebildet worden sind bzw. die Menge derselben, welche mit Phosphorwolframsäure nicht fällbar sind, versteht. Der Stickstoff dieser Substanzen, „der lösliche Stickstoff“ und „der Zersetzungstickstoff“, werden im folgenden mit „L. N.“ und „Z. N.“ bezeichnet und immer in Prozenten des Gesamtstickstoffes „G. N.“ ausgedrückt. Vergessen darf man indessen nicht, daß man mit Phosphorwolframsäure nicht nur die Proteinkörper, sondern auch die basischen Eiweißzersetzungsprodukte ausfällt, weshalb die Tiefe der Reifung in Wirklichkeit größer ist, als sie durch den Z. N. ausgedrückt wird. Um diesem Fehler etwas abzuhelpen, bestimme ich gewöhnlich auch den Ammoniakstickstoff „A. N.“ durch Destillation des Käseextraktes mit BaCO_3 .

Tabelle I.

			In Prozenten des G. N.			In Prozenten des L. N.	
			L. N.	Z. N.	A. N.	Z. N.	A. N.
1	Emmentalerkäse, 5 Monate alt	Inneres	35,82	17,36	—	48,47	—
	Emmentalerkäse, 5 Monate alt	Aeußeres	29,22	12,57	—	43,02	—
2	Emmentalerkäse, 12 Monate alt, reif	Inneres	33,15	17,35	2,37	52,34	7,15
1	Edamerkäse, 4 Monate alt, reif	Inneres	26,90	3,00	0,60	11,15	2,23
1	Schweizer. Magerkäse, 8 Monate alt, reif	Inneres	41,51	7,90	6,40	19,03	15,40
	Schweizer. Magerkäse, 8 Monate alt, reif	Aeußeres	35,90	7,40	5,20	20,61	14,50
2	Schweizer. Magerkäse, 16 Monate alt, überreif	Inneres	43,54	6,66	6,85	15,29	15,73
	Schweizer. Magerkäse, 16 Monate alt, überreif	Aeußeres	53,59	9,11	5,37	17,00	10,02
1	Roquefortkäse, reif	Die ganze Masse	52,50	23,64	4,99	45,03	9,51
1	Briekäse, nicht ganz ausgereift	Inneres	47,10	7,58	5,14	16,10	10,91
	Briekäse, nicht ganz ausgereift	Aeußeres	53,50	21,33	12,37	39,87	23,12
1	Camembertkäse, reif	Inneres	95,52	8,71	8,71	9,12	9,12
1	Limburgerkäse, 6 Wochen alt	Inneres	24,82	5,27	4,37	21,23	17,60
	Limburgerkäse, 6 Wochen alt	Aeußeres	55,10	12,58	4,51	22,83	7,85
1	Limburgerkäse, reif	Aeußeres	99,82	4,33	11,97	4,52	11,99
1	Schabzieger	Die ganze Masse	37,35	16,58	5,80	44,39	15,53

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß der Umfang der Reifung bei den Hartkäsen gewöhnlich kleiner als bei den Weichkäsen ist, und daß die Tiefe der Reifung bei den Emmentalerkäsen und bei den Weichkäsen, welche Schimmelpilze beherbergen, am größten ist. Ferner sieht man, daß die Menge des tiefsten Eiweißzersetzungsprodukts, des Ammoniaks, eher dem L. N. als dem Z. N. proportional ist, weshalb es mir nicht ganz zutreffend scheint, die Tiefe der Käsereifung durch die Menge des Z. N. (des Stickstoffes der Monoaminosäuren) auszudrücken. Vergleicht man die in der Tabelle angeführten Stickstoffzahlen der inneren und äußeren Schichten desselben Käses miteinander, so sieht man deutlich, daß die Reifung bei den Hartkäsen fast gleichmäßig durch die ganze Masse stattfindet oder eher von innen nach außen schreitet (weil die innere, feuchtere Masse natürlicherweise schneller reift als die äußeren, trockeneren Schichten), und daß bei den Weichkäsen das umgekehrte der Fall ist. Der Magerkäse No. 2 ist jedoch ein Beispiel davon, daß auch bei Hartkäsen (deren Rinde nicht völlig ausgetrocknet ist) mit der Zeit eine Reifung von außen nach innen (eine Weichkäsereifung) stattfinden kann. Ein solcher Käse ist indessen als „überreif“ zu bezeichnen und ist gewöhnlich durch eine bräunliche Verfärbung der äußeren Schichten leicht zu erkennen.

Was die Spaltung der Fettstoffe während der Käsereifung betrifft, so ist es in den letzten Jahren in Zweifel gezogen worden, ob eine solche überhaupt in merkbarer Weise stattfindet. Es geht indessen schon aus den in den 70er Jahren veröffentlichten Arbeiten des italienischen Forschers Giovanni Musso und seiner Mitarbeiter ¹⁾ deutlich hervor, daß das Käsefett während der Käsereifung zersetzt wird, und zwar in höherem Maße bei den Weichkäsen, insbesondere bei den mit Schimmelpilzen durchsetzten Käsesorten (Roquefort- und Gorgonzolakäse), als in den Hartkäsen (Parmesan-, Emmentaler- und Cheddarkäse). Diese Forscher zeigten ferner, daß die Fettspaltung bald nach der Herstellung der Käse ihren Anfang nimmt. Zu ähnlichen Resultaten ist Duclaux ²⁾ gekommen. Derselbe fand, daß erst beim Ueberreifen der Käse die Fettspaltung rasch vorwärts schreitet, und daß mit dem Aelterwerden der Käse freigemachte flüchtige Fettsäuren wieder verloren gehen. Weidmann ³⁾ und Benecke und Schulze ⁴⁾ zeigen, daß in Emmentalerkäsen nur eine geringe Fettspaltung stattfindet. Unter den freien Fettsäuren weisen die zwei letzteren Forscher Buttersäure nach, ziehen aber für ihre Entstehung nicht nur das Fett als Quelle in Erwägung, sondern auch das Parakasein und die Milchsäure. Weigmann und Backe ⁵⁾ haben gezeigt, daß reife Käse immer freie, nicht flüchtige Fettsäuren, wie Oelsäure, Pal-

1) Ricerche di chimica fisiologica e tecnologica eseguite della R. Stazione sperimentale di Caseificio di Lodi nel biennio 1877—1878. Ricerche sulla fermentazione dei caci. Lodi 1879.

2) *Le Lait*. p. 286.

3) *l. c.*

4) *l. c.*

5) Ueber die Frage der Zersetzung des Milchfettes bei der Käsereifungen. Die landw. Versuchsstationen. 1898.

mitinsäure und Stearinsäure, enthalten, und da nicht anzunehmen sei, daß solche hohe Fettsäuren aus dem Parakasein oder Milchsucker entstehen, wäre damit der Beweis geleistet, daß eine Fettspeilung im Käse stattfindet. Kirsten ¹⁾ sieht jedoch nicht ein, warum nicht auch höhere Fettsäuren aus dem Parakasein entstehen könnten und zeigt seinerseits, daß bei sämtlichen von ihm untersuchten Käsesorten das nach einer besonderen Methode gewonnene neutrale Käsefett während der Käsereifung keine qualitative und fast keine quantitative Aenderungen erleidet, und schließt daraus, daß, wenn eine Fettspeilung während der Käsereifung stattfände, diese jedenfalls nur gering wäre, und daß sämtliche Glyceride dadurch gleich stark betroffen werden müßten. Erst die im Jahre 1900 erschienene eingehende Arbeit von Windisch ²⁾ läßt keinen Zweifel mehr darüber, daß eine Fettspeilung während der Käsereifung stattfindet. Windisch bringt in Erinnerung, was schon Musso und Duclaux gezeigt haben, daß ein Teil der durch die Fettspeilung entstandenen freien Fettsäuren sich mit dem aus dem Parakasein gebildeten Ammoniak verbindet und dadurch in Aether unlösliche Salze bildet. Will man daher die im Käse vor sich gehende Fettspeilung studieren, so liefert das mit Aether extrahierte Fett kein genaues Bild derselben. Windisch schlägt zu diesem Zwecke vor, die Käsemasse durch Erwärmen mit Salzsäure zu lösen, wodurch die an Ammoniak gebundenen Fettsäuren auch frei werden, und das Fett, welches sich an der Oberfläche sammelt, nach dem Erstarren einfach abzuheben. Um es von allfällig anhaftender Salzsäure zu befreien, schmilzt man es wieder mit Wasser, läßt erkalten und trocknet den Fettkuchen mit Filtrierpapier. Nach diesem Verfahren verliert man freilich einen Teil der wasserlöslichen freien Fettsäuren, also wesentlich Buttersäure, jedoch ist nach Windisch's Ansicht dieser Verlust kein so großer als man glauben könnte, weil diese Säuren auch in geschmolzenem Fett löslich sind und sich daher schwierig mit Wasser auswaschen lassen.

Obwohl die Arbeit von Windisch mir beim Beginn meiner Untersuchungen unbekannt war, habe ich mich eines ähnlichen Verfahrens zur Messung der Fettspeilung im Käse bedient, welches auf der Fettbestimmungsmethode von St. Bondzynski ³⁾ beruht. Zur quantitativen Bestimmung des Fettes im Käse bringt St. Bondzynski ungefähr 1 g Käsemasse in eine graduierte Kugelhöhre hinein und löst sie bei vorsichtigem Erwärmen in Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,1. Nach dem Erkalten wird das Fett mit Aether ausgeschüttelt und ein aliquoter Teil der Aetherfettlösung abpipettiert, getrocknet und gewogen. Die so gewonnene Fettmenge wäre natürlich zu gering für weitere Untersuchungen; das Prinzip dieser Methode läßt sich aber auch für größere Käsemengen ver-

1) Untersuchungen über die Veränderungen des Milchfettes beim Reifen der Käse. (Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. 1898.)

2) Ueber die Veränderungen des Fettes beim Reifen der Käse. (Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, Berlin. Bd. XVII.)

3) Zeitschr. f. analyt. Chemie. 1894. p. 186.

wenden, indem man dieselben mit Salzsäure in einer Porzellanschale löst, diese Lösung in einem Scheidetrichter mit Aether ausschüttelt, die Salzsäure abfließen läßt und die Aetherfettlösung mit Wasser von 40 C mehrmals auswäscht, um absorbierte Salzsäure zu entfernen. Die so gereinigte Aetherfettlösung liefert nach dem Filtrieren und Trocknen ein reines Fett, das sämtliche freien, nichtflüchtigen Fettsäuren enthält. Die Milchsäure und ein Teil der freien, flüchtigen Säuren werden dagegen weggewaschen, und ein anderer Teil der letzteren verdunstet möglicherweise beim Trocknen des Fettes. Der größte Teil der freien, flüchtigen Säuren, welcher von der Fettspaltung herrührt, bleibt jedoch im Fette zurück, während die niedrigsten von anderen Quellen herrührenden Fettsäuren verschwinden, was daraus hervorgeht, daß die freien, flüchtigen Säuren in dem nach dem Salzsäureverfahren gewonnenen Fette in der Hauptsache aus Capron- und Buttersäure im gleichen Verhältnis, wie sie im Butterfett vorkommen, bestehen. Die Säurezahl des in dieser Weise gewonnenen Fettes liefert daher ein ziemlich treues Bild der im Käse stattgefundenen Fettspaltung. Unter Säurezahl wird, wie gewöhnlich, die Anzahl Kubikzentimeter Normallauge, die zur Neutralisierung von 100 g Fett nötig sind, verstanden. Da ich später zu einer näheren Erörterung der im Käse stattfindenden Fettspaltung nicht zurückkehre, will ich gleich in der folgenden Tabelle einige Ergebnisse meiner diesbezüglichen Untersuchungen zusammenstellen. (Siehe Tabelle II p. 170.)

Aus dieser Tabelle gehen mehrere interessante Tatsachen hervor. So sieht man, daß der Fettgehalt der vier ersten Käse mittels des Salzsäureverfahrens bestimmt größer ausfällt als nach dem Extraktionsverfahren, und zwar um so größer, je höher die Säurezahl des betreffenden Fettes ist. Dieses Verhältnis erklärt sich einfach aus dem soeben erwähnten Umstand, daß ein Teil der vom Fett abgespaltenen Fettsäuren als Ammoniaksalze im Käse vorhanden ist und sich somit der Aetherextraktion entzieht. Aus diesem Grund sind auch die Säurezahlen des nach dem Extraktionsverfahren gewonnenen Fettes gewöhnlich zu klein. Diese Zahlen können indessen auch zu groß ausfallen, wenn der Käse, wie es mit dem untersuchten Limburgerkäse der Fall war, viele nicht von der Fettspaltung herrührende wasserlösliche Fettsäuren enthält, die nach dem Salzsäureverfahren ausgewaschen werden, nach dem Extraktionsverfahren dagegen, soweit sie nicht an Ammoniak gebunden sind, mit dem Fett gewonnen werden. Besonders nachteilig wirken die dem Extraktionsverfahren anhaftenden Mängel auf die Bestimmung der Säurezahlen der flüchtigen Fettsäuren ein, die Säurezahlen der nicht flüchtigen Fettsäuren (d. h. Gesamtsäurezahl minus Säurezahl der flüchtigen Fettsäuren) dagegen werden dadurch weniger beeinflusst und besitzen somit, wenn das Fett, wie in den vorstehenden Analysen, mittels Petroläther von allfälligen Milchsäurebeimischungen gereinigt worden ist, einen relativen Wert für die Beurteilung der im Käse stattgefundenen Fettspaltung.

Aus den verschiedenen in der Tabelle II aufgeführten Säurezahlen läßt sich folgendes schließen:

Tabelle II.

			Fett nach dem gewöhnlichen Extraktionsverfahren gewonnen ¹⁾				Fett nach dem Salzsäureverfahren gewonnen			Destillationszahl	
			Prozent Fett im Käse	Gesamtsäurezahl	Säurezahl der flüchtigen Säuren	Säurezahl der nicht flüchtigen Säuren	Jodzahl	Prozent Fett im Käse	Gesamtsäurezahl		Destillationszahl als Säurezahl berechn.
Emmentaler-käse	3	Die äußerste 2 mm dicke Rindenschicht	25,27	51,9	7,9	44,0	35,5	30,58	105,0	11,1	44
		Die unter der Rinde nächstfolgende 10 mm dicke Schicht	30,80	12,7	3,5	9,2	35,4	31,06	14,3	12,9	40
		Die innerste Masse	30,56	12,0	3,5	8,5	35,3	30,71	13,9	21,1	65
Schweizer. Magerkäse	1	Aeußeres	0,78	295,0	13,0	282,0	—	2,29	362,0	341,0	78
		Inneres	0,46	304,0	32,0	272,0	—	1,43	362,0	601,0	86
		Inneres	0,39	333,0	25,0	308,0	—	1,49	362,0	745,0	111
Roquefort-käse	1	Inneres	33,90	47,0	10,0	37,0	—	35,10	49,0	11,1	38
Limburger-käse	3	Aeußeres	15,72	104,6	61,5	43,1	29,5	15,06	63,7	112,0	169
		Inneres	11,97	83,5	68,9	14,1	28,4	11,81	23,1	148,0	175

1) Ein Vergleich zwischen den Säurezahlen des Fettes der inneren Masse der verschiedenen hier untersuchten Käsesorten zeigt, daß die Fettspaltung am stärksten im Magerkäse und am schwächsten im Emmentaler Käse stattfindet.

2) Ein Vergleich zwischen den Säurezahlen des Fettes der verschiedenen Teile desselben Käses zeigt, daß das Fett in den äußeren Schichten immer stärker gespalten ist als in der inneren Masse.

(Fortsetzung folgt.)

1) Zu diesem Zwecke wurde die fein verriebene (bei den Weichkäsen mit Sand gemischte) Käsemasse zuerst bei Zimmertemperatur im Vakuum unter Schwefelsäure getrocknet und dann 10 Tage im Soxhletschen Apparat mit Aether entfettet. Während dieser Zeit wurde die Extraktion 3mal unterbrochen, damit man die Käsemasse herausnehmen und verreiben konnte. Nach Verdunsten des Aethers wurde das Fett in Petroläther aufgelöst, filtriert, getrocknet, gewogen, in Aetheralkohol gelöst und titriert.

Nachdruck verboten.

Ueber die Wasserröste des Flachses.

[Arbeit aus der Kgl. Bayer. Agrikultur-botanischen Anstalt.]

Von Dr. K. Störmer, München.

(Fortsetzung.)

Die besten Dienste zur Isolierung des Rösterregers leistete mir ein Pektin aus Serradellasamen, das sich sehr bequem in genügender Menge darstellen ließ, da es nicht so schleimig wie andere Pektin-substanzen, z. B. aus Möhren, Flachs oder Hanf war und daher leichter filtriert, getrocknet etc. werden konnte.

Nach mehreren Analysen von Serradellafrüchten (die Samen sind bekanntlich von der enganschließenden Hülse nur schwer zu trennen), die ich bereits im Jahre 1899 in der Kgl. Sächsischen pflanzenphysiologischen Versuchsstation Tharand ausführte, und die mir hier anzuführen erlaubt sei, da sie noch nicht veröffentlicht wurden, sind in 100 Teilen feingemahlener, durch das 1 mm-Sieb geschlagener, lufttrockener Substanz enthalten:

Wasser	13,63	Proz.
Eiweiß (Eiweiß-N \times 6,25)	19,56	"
Nicht-Eiweiß (Nicht-Eiweiß-N, auf Asparagin ber.)	2,78	"
Rohfett	7,65	"
Rohfaser	19,91	"
Reinasche	2,99	"
N-freie Extraktstoffe, Pektin etc. (Diff.)	33,48	"
		Sa. 100,00 Proz.

Die Asche enthielt:

SiO ₂	0,84	Proz.	CaO	22,24	Proz.
SO ₂	5,94	"	MgO	8,57	"
P ₂ O ₅	23,45	"	Fe ₂ O ₃	3,42	"
Cl	1,21	"			100,12 Proz.
K ₂ O	33,11	"	ab O ₂ =Cl	0,27	"
Na ₂ O	1,34	"			99,85 Proz.

Demnach betragen die N-freien Extraktstoffe ungefähr ein Drittel des Gesamtgewichtes, ein Anteil, der sich im enthülsten Samen natürlich noch bedeutend vergrößert. Da nun die Serradella-samen völlig frei von Stärke sind, so ergibt sich, daß der massenhaft vorhandene Pektinkörper in den Samen die Rolle eines Reservekohlehydrates spielen muß und demnach in leichter Weise gerade aus diesem Material gewonnen werden kann. Seine Herauslösung gelingt bereits durch Extraktion mit Wasser, besser natürlich bei Anwendung verdünnter Säuren.

Daß in diesem Stoff wirklich ein Pektin vorliegt, konnte bewiesen werden

1) durch Eintritt der Koagulation bei Zufügung von Pektase in Gegenwart eines Kalksalzes;

2) durch den Nachweis, daß er wie die andern Pektine sowohl Galaktose als auch Arabinose bei der Zersetzung liefert.

Der Nachweis der Galaktosegruppe geschah mit Hilfe der von Tollens¹⁾ angegebenen Schleimsäurereaktion. Ich erhielt die Säure in beträchtlichen Mengen in Form ihrer charakteristischen mikroskopisch kleinen Aggregate der nadelförmigen Einzelkrystalle. Sie stimmten darin, wie auch im Schmelzpunkt (208°) mit der aus Galaktose gewonnenen Säure vollkommen überein.

Schwierigkeiten hatte ich zunächst mit dem Nachweis der Pentosegruppe. Die Phloroglucinreaktion (Kirschrotfärbung) versagte völlig und an ihrer Stelle trat nur Braunrotfärbung auf. Endlich kam ich mit Hilfe einer Art kolorimetrischen Bestimmung zum Ziel, die nicht im entferntesten die Menge des zu prüfenden Stoffes erfordert wie eine quantitative Bestimmung des gebildeten Fufurols, und trotzdem vollkommen sicher entscheiden läßt, ob Pentosen zugegen sind oder nicht. Sie beruht darauf, die zu prüfende Substanz (0,1—0,5 g) mit 12,5-proz. Salzsäure zu destillieren und in bestimmten Intervallen die destillierende Flüssigkeit mit Anilinacetatpapier auf Fufurol zu prüfen. Die Streifen werden der Reihe nach auf eine weiße Unterlage gelegt und darnach läßt sich sehr sicher an dem Grade und der Folge der Rotfärbung entscheiden, ob nur Spuren oder viel Pentosen zugegen sind. Sämtliche Hexosen gaben nach dieser Methode geprüft überhaupt keine nennenswerte Reaktion, wenn sie rein waren, dagegen äußerst stark die beiden Pentosen, Arabinose und Xylose. Auch die geringen Mengen Pentosen, die dem gewöhnlichen Rübenzucker anhaften, ließen sich sehr schön nachweisen.

Das Serradellapektin gab nach der genannten Methode geprüft prächtige und anhaltende Rotfärbung, womit bewiesen ist, daß es neben der Galaktosegruppe auch einen Pentosenkomplex enthalten muß.

In gleicher Weise geprüft, gaben auch sämtliche andere Pektinkörper, also Pektin, koag. Pektin und Pektinsäure aus Möhren, die Pektinsäuren aus Flachs und Hanf äußerst stark die Pentosereaktion, obgleich nur in den Pektinstoffen aus Möhren die Pentose direkt durch die Kirschrotfärbung mit Phloroglucin nachgewiesen werden konnte.

Im Gegensatz zu dem Befunde von Prof. Behrens enthielt also auch das von mir geprüfte Hanfpektinsäurepräparat die Pentosegruppe.

Alle diese Substanzen ergaben bei der Oxydation mit Salpetersäure auch Schleimsäure; auf den Nachweis einer eventuell vorhandenen Dextrogruppe mit Hilfe der Zuckersäurebildung mußte ich verzichten, da diese Prüfung mehr Material erfordert als mir zu Gebote stand. Ich möchte nicht unterlassen nochmals darauf hinzuweisen, wie notwendig ein eingehenderes chemisches Studium der Pektinkörper wäre und welch dankbares Untersuchungsobjekt sie darstellen.

Für die speziell hier in Betracht kommenden Zwecke sei resümiert:

1) Tollens, Untersuchungen über Kohlehydrate. (Die Landwirtschaftlichen Versuchsstationen. Bd. 39. 1891. p. 401, insbesondere p. 416.)

- 1) Alle untersuchten Pektine und Pektinsäuren enthielten einen Galaktosekomplex,
- 2) sie enthielten ferner die Pentose-(Arabinose-)gruppe.

3. Bakteriologische Untersuchungen.

a) Die Isolierung des Rösteerregers.

Wie schon durch Prof. Behrens¹⁾ zur Genüge erörtert ist, kann nicht daran gedacht werden, daß etwa die Wasserröste der Gespinstpflanzen ein rein chemischer Vorgang bzw. der Effekt der Tätigkeit eines in den Pflanzen selbst vorhandenen Fermentes sei; denn mag man Flachs oder Hanf durch Hitze sterilisieren oder durch Zugabe von Chloroform die Wirkung von Mikroorganismen ausschließen, jedenfalls wird dabei trotz der Auslaugung von bedeutenden Mengen löslicher Stoffe die Röste eintreten, auch wenn man die Pflanzen unter noch so günstige Röstbedingungen bringt.

Nachdem ich mich zum Ueberfluß auch noch selbst von diesem Sachverhalt überzeugt hatte, mußte das nächste Bestreben darauf gerichtet sein, durch mikroskopische und bakteriologische Untersuchungen ein Bild davon zu gewinnen, welche Organismen etwa besonders häufig an geröstetem Flachs vorkommen, um darnach den Gang der Isolierungsarbeiten einzurichten.

Alle bisherigen Untersucher der Röste der Gespinstpflanzen sprechen sich dafür aus, daß bereits den vom Felde kommenden Pflanzen die Keime der Rösterreger anhaften. Das konnte natürlich auch von mir beobachtet werden; denn bringt man rohen Lein oder Hanf in fingerlange Stücke zerschnitten unter Wasser, so wird man fast stets in längerer oder kürzerer Zeit zur Röste gelangen, indessen sind bezüglich dieser Feststellung doch gewisse Vorbehalte zu machen. Unzweifelhaft befinden sich unter den an den Pflanzen haftenden Organismen immer solche, die die Fähigkeit besitzen die Röste herbeizuführen, aber ob es gerade diejenigen sind, die diesen Prozeß mit besonderer Energie durchführen können, bleibt durchaus dem Zufall überlassen. Auch hat man ganz besonders zu beachten, daß in dem entstehenden Konkurrenzkampf der sich zahlreich entwickelnden Keime nicht immer die echten Rösteerreger sich so schnell entwickeln werden, daß sie nicht mehr von den anderen Arten unterdrückt werden können. Es ist in der Praxis eine nur zu gut bekannte Erscheinung, daß manche Rösten nicht richtig gelingen, da sie entweder abnorm lange gebrauchen, bevor sie gar sind oder eine faulige Gärung entsteht, bei welcher zwar eine große Menge von Organismen vorhanden sind, die Röste aber trotzdem nicht erreicht wird bzw. ein völliger Zerfall der Pflanzen stattfindet.

In der Tat konnte ich alle die genannten Fälle auch bei den Kulturen im Kleinen beobachten: oftmals trat sehr prompte Röste ein, ohne daß indessen die sich entwickelnden Organismen immer die gleichen waren; bisweilen aber stellte sich die Gärung auch nach Wochen nicht ein. Jedenfalls gewann man dabei die sichere Ueber-

1) Behrens, a. a. O. p. 202.

zeugung, daß die echte Röste stets mit typischer Gasentwicklung, wobei die einzelnen Gasperlen von dem Pflanzenmaterial beständig ausgehen und sich an der Oberfläche zu einem feinblasigen Schaum sammeln, verbunden ist. Da sich das gleiche auch bei der technischen Röste beobachten läßt, so ist somit die Röste als ein echter Gärprozeß aufzufassen.

Wie es sich durch die Ausführungen auf S. 179 noch klarer ergeben dürfte, muß es als ein nicht immer sicheres Verfahren bezeichnet werden die Frage nach dem eigentlichen Rösteerreger in der Weise zu lösen, daß man die betreffende Faserpflanze unter die Bedingungen für die Röste bringt und bei positivem Ergebnis ohne weiteres annimmt, es müsse ein daraus gezüchteter, die Röste bewirkender Organismus nun auch derjenige sein, der beim technischen Prozeß besonders in Betracht kommt. Es soll durchaus zugegeben werden, daß sich in den meisten Fällen auch jene spezifischen Organismen unter der ungeheuren Menge der Bakterien finden werden, aber ob sie so zahlreich vorhanden sind, daß man bei Anreicherungsverfahren mit Flachs oder Hanf zu ihrer Isolierung gelangt, bleibt ganz dem Zufall überlassen. Meines Erachtens ist der einzige Weg, um sich hierbei vor Fehlschlägen zu bewahren, von einem der technischen Röste entstammenden Material auszugehen. Für den Flachs liegen die Verhältnisse diesbezüglich sehr günstig, denn wenn irgendwo, dann muß in den großen Röstanstalten der echte, typische Erreger der Warmwasserröste des Flachses zu finden sein. Ebenso wird man den Erreger der Kaltwasserröste am sichersten an dem klassischen Ort für dieselbe, in dem Wasser der Lys, antreffen können.

Beim Hanf ist allerdings der Umstand nachteilig, daß derselbe meines Wissens in Röstanstalten überhaupt nicht und mittelst der Kaltwasserröste nur in zurücktretendem Maße geröstet wird. Jedenfalls muß man auch hier von einem aus Röstgruben etc. stammenden Material ausgehen.

Entsprechend den bereits dargelegten Absichten, wonach es mir besonders darauf ankommen mußte, die Warmwasserröste des Flachses zu studieren, nahmen meine Untersuchungen ihren Ausgang von Flachsmaterial aus verschiedenen Röstanstalten. Herr Prof. Steglich in Dresden veranlaßte in dankenswerter Weise die Uebersendung von rohem Lein und geröstetem Flachs in verschiedenen Stadien aus der Röstanstalt von Grützner und Faltis in Hainitz, Sachsen, und durch direkte Verbindung erhielt ich ferner sehr reichhaltiges Material von der Firma Gruschwitz und Söhne in Neusalz a/Oder. Dank dem Entgegenkommen des technischen Leiters der letztgenannten Firma, Herrn Dr. Schäfer, erhielt ich neben systematisch entnommenen Flachsproben auch noch in regelmäßigen Sendungen die gewünschten Mengen der zu gleicher Zeit entnommenen Röstflüssigkeit.

Das mir zur Verfügung stehende Material wurde jedesmal in folgender Weise verarbeitet: Etwa 5 an verschiedenen Stellen entnommene 1—2 cm lange Stücke der Flachsstengel wurden im sterilisierten Achatmörser mit 5 ccm sterilem Wasser, unter Beach-

tung der nötigen Vorsichtsmaßregeln, gelinde zerrieben und mit dieser Flüssigkeit in 3 Verdünnungen Aussaaten in alkalischer Fleischpeptongelatine und saurer Erbsengelatine sowohl direkt als auch nach vorhergehender Pasteurisierung vorgenommen.

Aus den Röstflüssigkeiten erfolgte die Aussaat direkt, ebenfalls im unbehandelten sowie pasteurisierten Zustande unter Verwendung der gleichen Nährböden.

Mit Erbsengelatine ist ein Nährboden (für Leguminosenbakterien) bezeichnet, der 2 pro Mille Extrakt aus Erbsenwurzeln oder jungen Erbsenkeimlingen, 1 Proz. Traubenzucker und $\frac{1}{4}$ Proz. Asparagin enthielt und mit Aepfelsäure so eingestellt wurde, daß die Flüssigkeit blaues Lackmuspapier sehr schwach rötete. Die Flora, die sich auf den Gelatineplatten entwickelte, war eine sehr einfache; aber bezeichnender Weise eine etwas verschiedene, je nachdem es sich um das Röstmaterial oder um die Röstflüssigkeit handelte. Im ersteren Falle fielen namentlich die verflüssigenden Fluorescenten auf, die in der Röstflüssigkeit fast ganz zurücktraten. Ohne auf die Einzelresultate näher einzugehen, sind im Nachstehenden die Ergebnisse dieser zahlreichen Untersuchungen folgendermaßen zusammengefaßt:

1) Sowohl am Röstmaterial als auch in der Röstflüssigkeit finden sich äußerst zahlreich nicht sporenbildende, auf Fleischpeptongelatine gedeihende Bakterienarten, während dagegen sporenbildende gelatinewüchsige Organismen überhaupt nicht vorhanden sind.

Als vorherrschende Bakterienarten müssen bezeichnet werden:

- a) *Bacterium fluorescens liquefaciens*;
- b) eine mit *Bacterium coli* sehr ähnliche, wenn nicht identische Art;
- c) ein nicht verflüssigendes, nicht sporenbildendes Kurzstäbchen mit gelblichen, schleimigen Oberflächen- und sehr regelmäßigen, linsenförmigen Tiefenkolonien;
- d) ein die Gelatine langsam erweichendes, nicht sporenbildendes Stäbchen mit gelben, rosettenförmig gestalteten Tiefenkolonien.

Die Identifizierung mit schon bekannten Arten sowie die genauere Beschreibung der einzelnen Species erscheint besonders in Anbetracht der bekannten Schwierigkeiten, die sich einem solchen Vorhaben in der Bakteriologie entgegenstellen, zunächst zwecklos.

2) Einen wichtigen Anteil an der Flora der Röste nehmen auch die Hefen und die oidiumähnlichen Pilze. Letztere bilden in erster Linie die dichte Kahmhaut, die sich auf der Röstflüssigkeit entwickelt, während die Hefen mehr dem Röstgut anhaften.

3) Die mikroskopisch in erster Linie an den Flachsstengeln, in großer Menge aber auch in der Röstflüssigkeit zu bemerkenden Sporen, Clostridien und Plektridien, gelangten bei der Aussaat auf Gelatine niemals zur Entwicklung, auch nicht, wenn pasteurisiertes Aussaatmaterial verwendet wurde.

Mit den von den Platten direkt isolierten gelatinewüchsigen Arten wurden unter den verschiedensten Bedingungen bei Luftzutritt wie -abschluß Röstversuche angestellt, die indessen in keinem Falle zu einem Erfolg führten. Auch reine Pektinverbindungen in Nährlösungen vermochten diese Arten nicht zu vergären. Demnach konnten sie als Rösterreger nicht in Betracht kommen und es mußten dieselben unter den unter 3 genannten Formen gesucht werden. Da sich diese Formen nicht direkt aus dem Röstmaterial durch Aussaat in Reinkultur gewinnen ließen, mußte die Isolierung durch eine Anreicherung des gesuchten Organismus mit Hilfe einer passenden Nährlösung vorbereitet werden, ein Verfahren, das sich bekanntlich bei manchen anderen schwierig zu züchtenden Organismen bereits vielfach bewährt hat.

Hierfür kamen zwei Wege in Betracht. In erster Linie hätte man zu dem Anreicherungsverfahren direkt Flachs benutzen können, etwa in der Weise, daß man die Stengel in fingerlange Stücke zerschneidet und darnach mit der nötigen Menge Wasser sterilisiert. Diesem Verfahren stellen sich aber eine Reihe bedeutender Schwierigkeiten in den Weg, die das Arbeiten damit recht unbequem machen. Einmal erfordert dieses Material größere Gefäße, die schwieriger zu sterilisieren sind und die nicht in so einfacher Weise wie die gewöhnlichen Kulturröhrchen zu anaërober Kultur verwendet werden können, und ferner ist es sehr schwierig, Flachs- oder selbst Hanfstengel so zu sterilisieren, daß sie zwar einerseits sicher keimfrei, aber andererseits durch die Einwirkung des heißen Wassers nicht bereits zu sehr verändert sind. In letzterem Falle gelingt es nämlich durchaus nicht mehr, sie in normaler Weise zur Gärung zu bringen. Endlich hat ihre Anwendung meines Erachtens den Hauptnachteil gegen sich, daß mit ihnen das eigentliche Prinzip der elektiven Kultur nicht genügend kräftig angewendet werden kann. Dieses besteht bekanntlich darin, die Nährstoffverhältnisse einer Lösung so einzurichten, daß dadurch ein bestimmter Prozeß, d. h. das dafür in Betracht kommende Mikrob, besonders begünstigt wird bei gleichzeitig weitgehendster Unterdrückung anderer nur nebenher von den Nährstoffen zehrenden Organismen. Nach solchen Gesichtspunkten stellt sich eine Nährlösung, die selbst ausgelaugte Flachs- oder Hanfstengel enthält, sehr ungünstig dar, denn sie enthält natürlich noch eine nicht unbedeutende Menge an eiweiß- und kohlehydratartigen Nährstoffen, so daß auf deren Kosten die verschiedensten Mikroben gedeihen können.

Größeren Vorteil in Bezug auf alle diese Punkte bot dagegen eine künstliche Nährlösung, die natürlich, da es sich nach allem Vorhergehenden um einen Prozeß handelt, der mindestens teilweise in einer Zersetzung von Pektinstoffen besteht, in erster Linie Pektin enthalten mußte. Aber gerade die Anwendung dieses Stoffes gewährleistete die elektive Wirkung der Nährlösung; denn nach den Erfahrungen, die Omelianski beim Studium des Cellulosezersetzungsprozesses gemacht hatte, war anzunehmen, daß auch Pektin nur von bestimmten Organismen zersetzt werden könne. Natürlich ist es unstatthaft, a priori zu schließen, daß eine mit Hilfe einer

solchen Nährlösung erhaltene Bakterienart wirklich den Rösteerreger darstellt; darüber kann allerdings erst nach wirklichen Röstversuchen mit Flachs oder Hanf ein abschließendes Urteil gefällt werden.

Unter den Pektinsubstanzen kam natürlich in erster Linie die Mittellamellensubstanz, also der pektinsäure Kalk, in Betracht; indessen zeigte es sich, daß auch andere Pektinkörper dazu mit Vorteil verwendet werden können. Die besten Dienste leistete mir das Serradellapektin, das den Rösteerregern ein sehr zusagender Nährstoff zu sein schien, denn sie entwickelten sich in damit bereiteten Nährlösungen üppiger als in solchen mit anderen Flachs- oder Hanfpektinen, obgleich diese letzteren schneller in Gärung gerieten.

Endlich mußten auch Nährlösungen, die hauptsächlich reine Kohlehydrate enthielten, mit in den Kreis der Untersuchungen gezogen werden, denn es war in Anbetracht des Charakters der Pektinkörper, als Derivate der Kohlehydrate, von vornherein nicht ausgeschlossen, daß auch mit diesen schon die Isolierung gelingen würde. Zumal Arabinose, die zu den schwieriger zu vergärenden Zuckerarten gehört, war zu prüfen, und von den Hexosen kamen besonders die komplexeren derselben, wie Stärke oder Dextrin, in Betracht.

Die mit allen diesen Stoffen bereiteten Nährlösungen enthielten stets $\frac{1}{2}$ Proz. Pepton, 1 pro Mille KH_2PO_4 , $\frac{1}{4}$ pro Mille MgSO_4 neben einer gewissen Menge von kohlensaurem Kalk. Dieser Grundlösung wurde zugefügt:

$\frac{1}{2}$ —1 Proz. Stärke, Dextrin, Traubenzucker, Galaktose oder Arabinose bzw. 2—5 pro Mille Pektinsubstanzen.

Alle Nährlösungen wurden prinzipiell mit Leitungswasser hergestellt und in bekannter Weise sterilisiert, die echten Kohlehydrate im Autoklaven, die pektinhaltigen Nährböden besser im Dampftopf bei 100°. Meist verwandte ich zu den Kulturen 10 ccm der Nährlösung, bisweilen auch größere Mengen (bis 1 l). Zur Erzielung anaëroben Wachstums genügten vollständig die Buchnerschen Röhrchen, die mit 1 g Pyrogallol und 10 ccm 10-proz. Kalilauge beschickt wurden.

Die Isolierungsarbeiten nahmen nun folgenden Gang. Mit der gleichen durch Zerreiben der Flachsstengel in sterilem Wasser erhaltenen Aufschwemmung der anhaftenden Bakterien, mit welcher ich die Platten besäte, wurden auch die Nährlösungen beimpft, die bei Sauerstoffabschluß zu kultivierenden sofort darnach in die Buchnerschen Röhrchen eingeschlossen und bei 30° C im Thermostaten gehalten. Die Kontrolle erfolgte makroskopisch mehrmals an einem Tage, mikroskopisch so oft es sich als nötig erwies. Ich kann auch hier wieder das Gesamtergebnis kurz zusammenfassen und auf die Wiedergabe der zahlreichen und langwierigen Einzelversuche verzichten, die nur ermüden würden, ohne wesentlich zur Klärung beizutragen.

Sämtliche beimpfte Lösungen, die mit Stärke, Dextrin, Traubenzucker, Galaktose, Arabinose, Pektin aus Möhren, Serradellapektin, pektinsäurem Kalk aus Möhren, Flachs oder Hanf beschickt waren,

gerieten nach längerer oder kürzerer Zeit bei Kultur unter Sauerstoffabschluß in Gärung, gleichgültig, ob das Aussaatmaterial pasteurisiert oder nicht pasteurisiert verwendet wurde. Bei Kultur unter Sauerstoffzutritt trat dagegen in der Regel nur in den Nährlösungen mit nicht pasteurisiertem Aussaatmaterial die Gärung ein. In den nicht gärenden Röhrchen konnte auch eine Organismenentwicklung nicht beobachtet werden. Am schnellsten gerieten in der Regel Traubenzucker und die Pektine in Gärung, langsamer die komplexen Kohlehydrate. Der Gasentwicklung selbst ging stets erst eine Trübung der klaren Nährlösungen, verursacht durch die sich entwickelnden Mikroben, voraus. Im Höhepunkt des Wachstums war die Gasentwicklung eine geradezu stürmische und erzeugte feinblasige Schäume, die 1 cm Höhe und mehr erreichten; erst gegen das Ende zu wurde der Schaum großblasiger und verschwand endlich ganz. Die Schäume waren bei den Kohlehydraten und beim Serradellapektin weit stärker als bei der Vergärung der anderen Pektinkörper. Die mikroskopische Untersuchung der gärenden Flüssigkeit ließ nun mit voller Deutlichkeit erkennen, daß sich in den gewählten Nährlösungen die auf Gelatine nicht gedeihenden sporenbildenden Arten äußerst üppig entwickelten, und der Umstand, daß diese Entwicklung auch erfolgte, wenn das Aussaatmaterial pasteurisiert wurde, bewies mit Sicherheit, daß unter jenen sporenbildenden Arten der Erreger der Röste gesucht werden mußte. Daß jedoch auch die asporogenen auf Gelatine gedeihenden Arten für die Röste von größter Wichtigkeit sind, wird später noch ausführlich darzulegen sein.

Als das wichtigste Ergebnis dieser Untersuchungen möchte ich jedoch die Tatsache bezeichnen, daß sich in den Nährlösungen, die ausschließlich Hexosen oder Hexoseabkömmlinge, wie Stärke oder Dextrin enthielten, fast ausschließlich Clostridien, d. h. Bakterienarten, die unter spindelartiger Anschwellung in der Mitte des Stäbchens eine Spore erzeugen, entwickelten, während die Nährlösungen, die mit Arabinose oder Pektinkörpern hergestellt waren, durchaus vorherrschend, ja oft mikroskopisch rein, nur Plektridien, d. h. Bakterienformen, die am Ende unter Bildung einer trommelschlägelartigen Gestalt eine Spore hervorbringen, enthielten.

Hier liegt eine Beziehung zwischen physiologischen und morphologischen Eigenschaften einer Organismengruppe vor, die meines Erachtens von großem Interesse ist.

Entsprechend diesen Befunden ergab die Ueberimpfung aus einem Hexoseröhrchen auf neue Hexosen Nährlösungen stets die Entwicklung von Clostridien, die von Arabinose- oder Pektinröhrchen auf dieselben Nährboden das ausschließliche Wachstum von Plektridien.

Was ist nun aus diesen Ergebnissen bezüglich des gesuchten Erregers der Wasserröste zu entnehmen? Doch wohl nur die Folgerung, daß dieser Erreger ein Plectridium sein muß, denn da auf

p. 172 der Nachweis geführt werden konnte, daß alle untersuchten Pektinsubstanzen Pentosen enthalten, so wird der Organismus, der ihre Zerstörung im Pflanzenkörper bewirken soll, auch die Fähigkeit Pentosen vergären zu können unbedingt besitzen müssen, wenn er diesen Prozeß rasch und vollkommen durchführen soll. Dementsprechend zeigten ja auch die Nährlösungen mit Pektinen die fast ausschließliche Entwicklung von Plektridien. Hier ergibt sich auch eine einfache Erklärung für die von Behrens gemachte Beobachtung, daß sein Rösteerreger dem Flachs gegenüber sehr träge war, denn da dieser Rösteerreger ein Clostridium ist, kann er nach Behrens eigenen Angaben und damit meinen Befunden entsprechend nur Hexosen, nicht Pentosen vergären. Der von Behrens benützte und untersuchte Hanf enthielt auffälliger Weise nur Pektinsubstanzen, in denen die Pentosegruppe fehlte. Zufolge dieses Umstandes mußte Prof. Behrens daher bei seinen Anreicherungsversuchen zu einem Clostridium gelangen. Da aber die von mir aus Hanf gewonnene Pektinsäure gleichfalls Pentosen lieferte, und zwar in bedeutender Menge, so muß ich nach allem Vorhergehenden vermuten, daß Behrens Rösteerreger nur bestimmtem, nicht allem Hanf gegenüber eine genügende Fähigkeit, die Röste herbeizuführen besitzt. Aus dem Dargelegten darf aber natürlich nicht der Schluß gezogen werden, daß Clostridien überhaupt nicht pentosehaltige Pektinsubstanzen angreifen können; es ist vielmehr sehr wohl denkbar, daß sie den Hexoseteil derselben abbauen und damit ihren Molekularkomplex zerstören können, nur dürfte diese Einwirkung sehr viel langsamer als diejenige der Plektridien erfolgen, d. h. die Clostridien kommen für technische Zwecke nicht in Betracht. Ich will auch keineswegs die Behauptung aufstellen, daß es überhaupt keine Clostridien gibt, die Pentosen vergären können, obgleich es auffallend ist, daß auch Winogradsky¹⁾ für Clostridium Pastorianum angibt, es könne Arabinose nicht vergären, doch können solche Clostridien nach meinen Versuchen am Röstgut und in der Röstflüssigkeit des Flachses kaum vorhanden sein. An dieser Stelle sei noch erwähnt, daß sich in Friebes Arbeit bedauerlicher Weise keine Angaben finden, ob das von diesem Forscher isolierte Plectridium die Fähigkeit besitzt Pentosen zu vergären.

Die Isolierung des gesuchten Rösteerregers war nach diesen Vorarbeiten keine allzuschwierige Aufgabe mehr. Hauptsächlich verwandte ich dazu die Nährlösung mit Serradellapektin. Wenn eine beimpfte Nährlösung bereits den Höhepunkt der Gasentwicklung überschritten hatte, überzeugte ich mich durch mikroskopische Untersuchung, ob bereits genügend Sporen gebildet waren, und wenn dies der Fall war, wurde das Röhrchen 10 Minuten bei 80° pasteurisiert und nach kräftigem Aufschütteln einige Oesen auf eine neue Lösung übergeimpft. Mit derselben wurde, wenn die Gärung prompt eingetreten war, in gleicher Weise verfahren, und diese

1) Winogradsky, Centralblatt für Bakt. etc. Abt. II. Bd. IX. 1903. p. 278.

Ueberimpfung 4—5 mal wiederholt. Schon die 2. Ueberimpfung zeigte mikroskopisch die Reinkultur eines großen Stäbchens, das unter Bildung einer Trommelschlägelform terminal eine Spore entwickelte. Diese Bakterienart vermochte, auf Flachs oder Hanf übergeimpft, diese Faserpflanzen bei Luftabschluß äußerst schnell und kräftig zu rösten. Ich war somit in dem Besitz einer Rohkultur des Rösteerregers gelangt, und das nächste Bestreben mußte darauf gerichtet sein, eine einwandfreie Reinkultur zu erlangen. Dieselbe gelang mir schneller als ich hoffen konnte. Es erwies sich nämlich, daß dieser Organismus auf der oben genannten sauren Erbsenwurzelextraktgelatine, wenn auch nur langsam, so doch sicher zur Entwicklung gebracht werden konnte, wenn schneller wachsende und daher störende Organismenarten nicht vorhanden waren. Das Wachstum ist augenscheinlich in erster Linie abhängig von der Gegenwart von Kohlehydraten und erfolgt bemerkenswerter Weise auf dem genannten Nährboden auch dann noch, wenn derselbe nicht unter Sauerstoffabschluß gebracht wird, allerdings immer nur in der Tiefe der Gelatine, wo der Partialdruck des Sauerstoffs ein geringerer sein dürfte, niemals an der Oberfläche.

Auf den besäten Platten, die bei 20° gehalten wurden, ist lange Zeit — 10 Tage und mehr — makroskopisch überhaupt kein Wachstum wahrzunehmen, mikroskopisch dagegen sieht man bereits am 3. Tage kleine, runde oder ovale, glattrandige, gelbliche Scheibchen von 0,01—0,2 mm Durchmesser, die eine deutliche Granulierung zeigen und nach etwa 14 Tagen eine Größe von etwa $\frac{1}{4}$ cm erreichen. Solange die Kolonien noch klein sind, wird die Gelatine absolut nicht verändert, später allerdings tritt durch die bekannte Erscheinung, daß aus toten Zellen der Kolonien proteolytische Fermente in die Umgebung diffundieren, eine Erweichung der die Kolonie umgebenden Gelatine ein. Dieser Umstand hat auch eine morphologische Veränderung der Kolonien insofern zur Folge, als aus den bis dahin glattrandigen Scheibchen dicke Ausläufer austreten, die der Kolonie eine unregelmäßig sternartige Form verleihen. Von diesen Kolonien ausgehend konnte nunmehr eine Reinkultur des isolierten Rösteerregers gewonnen werden.

Daß in der isolierten Reinkultur wirklich der gesuchte Rösteerreger vorlag, wurde durch eine große Reihe von Versuchen erhärtet, durch welche der exakte Nachweis geführt wurde, daß der Organismus für sich allein bei Sauerstoffabschluß sterilen Flachs, sowie auch Hanf ausgezeichnet zu rösten vermochte. In seinem Röstvermögen bestand gegenüber diesen beiden Faserpflanzen durchaus kein Unterschied, wie etwa bei dem *Clostridium* von Behrens. Ebensogut vermochte der Organismus sterile Möhrenstücke unter Wasser zu zersetzen, und besonders schön zeigte sich auch seine Fähigkeit, die Zellen infolge der Zerstörung der Bindesubstanz voneinander zu trennen, wenn man sterile Leguminosensamen unter Wasser, etwa Erbsen, damit beimpfte. Schon nach 3 Stunden setzte dann die Gasentwicklung ein, wobei die Gasperlen dem offenen

Nabel in regelmäßiger Folge entstiegen. Die mikroskopische Untersuchung der bald zu einem Brei zerfallenden Kotyledonen zeigte dann ein überaus charakteristisches Bild: jede Zelle war von den anderen wie durch sauberste Mazerationsarbeit getrennt, ohne daß die Zellmembran und infolgedessen auch die Zelle selbst nur im geringsten verletzt war, und um jede Zelle lagerten die langen Plektridien in dichten Reihen. Schon hierdurch erwies sich, daß das Plectridium Cellulose in keiner Weise anzugreifen vermag. Nach diesen Resultaten darf als sicher angenommen werden, daß das Plectridium ebenso flott Ramie und jede andere Faserpflanze vergären würde.

In dem sicheren Besitz einer Reinkultur eines echten Rösteerregers konnte ich nunmehr dessen physiologische Leistungen, die für die Technik in erster Linie in Betracht kommen, ausführlich studieren.

Bevor indessen hierzu übergegangen wird, dürfte es am Platze sein die Morphologie des Organismus, der den Namen Plectridium pectinovorum wegen seiner besonderen Fähigkeit, Pektinsubstanzen zu zersetzen, tragen soll, eingehender zu betrachten.

b) Die Morphologie des Rösteerregers.

Wie das flachsröstende Plectridium von Friebes zeigt auch Plectridium pectinovorum eine durchschnittliche Größe (lebend) von $10-15\ \mu$ bei einer Breite von $0,8-1\ \mu$, jedoch kommen beträchtliche und mehr dem Auge auffallende als durch Zahlen zu verdeutlichende Schwankungen vor, die umso interessanter sind, als sie zu der Ernährung in bestimmtem Zusammenhange stehen. Das Gesetz dieses beschränkten Pleomorphismus läßt sich kurz dahin zusammenfassen, daß Plectridium pectinovorum bei Ernährung mit Hexosen, im speziellen mit Traubenzucker, eine mehr gedrungene Form ($10-12 \times 1\ \mu$) annimmt, so daß dabei selbst die Köpfchenbildung bei Entstehung der Spore nicht so stark wie sonst auffällt und somit sonderbarer Weise auch in der Gestalt eine gewisse Annäherung in morphologischer Beziehung an die Clostridien stattfindet, obgleich selbstverständlich die Plektridienform durchaus erhalten bleibt. Dagegen zeigt der Organismus seine typische gestreckte Form ($12-16\ \mu \times 0,8\ \mu$), wenn er mit Pentosen oder Pektinen ernährt wird, oder wenn er aus der Flachsröste entnommen wird. Im gefärbten Zustande erscheint das Stäbchen noch schlanker.

Plectridium pectinovorum speichert die granuloseartige Substanz und zeigt demnach Blaufärbung mit Jod. Indessen tritt diese Blaufärbung nur ein, wenn es mit komplexeren Kohlehydraten, also Pektinen oder Stärke ernährt wird; bei Wachstum in Traubenzucker- oder Arabinoselösungen fehlt die Granulosereaktion und es tritt mit Jod nur eine rein gelbe Färbung auf.

Das Stäbchen ist gut beweglich und dürfte nach der ganzen Art seiner Bewegung peritrich begeißelt sein.

Die Ausbildung der Spore erfolgt terminal nach den üblichen Vorgängen, also zunächst deutliche Anschwellung unter Veränderung

des beteiligten Plasmas im Lichtbrechungsvermögen, dann Anhäufung lichtbrechender Plasmamassen und endlich Verdichtung zur Spore, die eine eigene Zellwand bildet. Die granuloseartige Substanz zieht sich mit dem Fortschreiten dieses Vorganges zurück (oder wird aufgebraucht?), so daß sie zunächst wie eine Hülle das sporogene Plasma umgibt und später nur noch im Stäbchen vorhanden ist. Die Spore färbt sich mit Jod rein goldgelb.

Winogradsky gibt für die Sporen des *Plectridium* von Friebes die Maße $1,8 \times 1,2 \mu$ an. In dieser Beziehung scheint es sich von *Plectridium pectinovorum* zu unterscheiden, denn bei diesem Organismus sank die Sporengröße (lebend) nie unter $2,5 \times 1,6 \mu$ und war meistens $2,8 \times 1,8 \mu$, nicht selten auch $3 \times 2 \mu$. Die Sporen haben oftmals noch einen Teil der Membran des Stäbchens (etwa 3μ lang) als Anhängsel, indessen handelt es sich hierbei nicht um eine ähnliche Kapsel, wie bei *Clostridium Pastorianum* Winogradsky¹⁾, denn es fehlt in der Mehrzahl der Fälle.

Die Sporen ertragen mit Leichtigkeit eine Temperatur von 80° 10 Minuten lang, gegen 100° sind sie aber empfindlicher.

Die Keimung der Spore erfolgt polar, die Längswände der Sporenhaut klaffen dann oftmals ziemlich weit auseinander.

Das Stäbchen nimmt sehr gut die gebräuchlichen Anilinfarben an, die Spore erst beim Kochen. Die Färbung nach Gram fällt positiv aus.

Bei Wachstum unter Verhältnissen, wo der Organismus stark Säure bildet, treten oft gekrümmte und zerfallende Involutionsformen auf.

Das Aussehen der Kolonien auf saurer Erbsengelatine wurde bereits auf p. 180 beschrieben. Interessanter Weise bildet das *Plectridium* hier entweder gar nicht oder erst sehr spät Sporen aus. Auf den gebräuchlichen Bouillon-etc.-Nährböden erfolgt keine Entwicklung. Selbstverständlich gedeiht dagegen der Organismus bei Sauerstoffabschluß auf Kartoffeln und Möhren, ohne indessen hierbei charakteristisches zu bieten.

c) Die Physiologie von *Plectridium pectinovorum*.

Wenn aus den morphologischen Angaben geschlossen werden kann, daß der von mir isolierte Rösteregger demjenigen von Friebes morphologisch sehr nahe steht, wenn nicht gar mit demselben identisch ist, so scheinen doch in Bezug auf die physiologischen Eigenschaften ziemliche Verschiedenheiten zwischen beiden Organismen zu bestehen. In erster Linie würde das in der Beziehung zum Sauerstoff zum Ausdruck kommen. Zwar muß ich auch hier wieder bedauernd auf das Fehlen genauerer Mitteilungen über den im Winogradskyschen Laboratorium isolierten Rösteregger hinweisen, aber soviel sich aus dem bisher Erschienenen entnehmen läßt, scheint es sich um einen strenger anaëroben Ba-

1) Winogradsky, Centralblatt für Bakt. etc. Bd. IX. 1903. p. 278.

cillus zu handeln, wenigstens gelang seine Kultur nur bei völligem Sauerstoffabschluß in einer Wasserstoffatmosphäre. *Plectridium pectinovorum* ist hierin weit weniger empfindlich und gedeiht, wie sich aus den Darlegungen auf p. 180 ergibt, auf zuckerhaltigen Nährböden, allerdings nur innerhalb der Gelatine, ohne daß es erforderlich ist, den Sauerstoff noch besonders wegzunehmen und kann somit nur als fakultativ anaërob bezeichnet werden. Auch im übrigen erwies es sich, daß es nicht nötig war, den Sauerstoff bis auf die letzten Spuren zu entfernen, um sein Wachstum zu ermöglichen, obgleich andererseits die Vergärung von Zuckerarten oder Pektinen doch nur dann eintrat, wenn die Sauerstoffspannung eine sehr geringe war. Schon 15 mm Luftdruck konnten in dieser Beziehung selbst dann noch die Vergärung und damit das Wachstum in Lösungen vollständig hemmen, wenn die Flüssigkeit auch in sehr hoher Schicht angewendet wurde. Bei normalem Luftdruck trat in Nährlösungen überhaupt kein Wachstum ein.

Bezüglich der Ansprüche an den Nährboden ist zunächst die Tatsache bemerkenswert, daß der Organismus unter keinen Umständen in alkalischer Fleischbouillon, auf Fleischpeptongelatine oder Fleischpeptonagar gedeiht, wodurch sich die Reinheit der Kulturen in bezug auf Organismen, die auf den genannten Nährböden wachsen, bequem kontrollieren läßt.

Dagegen gedeiht er auf allen Nährböden, die neutral oder sauer sind und in denen Zuckerarten bzw. Pektine und Eiweiß oder Albumosen (Pepton Witte) geboten werden, demzufolge auch sehr gut in sterilisierter Magermilch, deren Eiweiß infolge der Säuerung bald gefällt wird.

Um die ihm günstigste Reaktion festzustellen, wurde eine Nährlösung, die 2 pro Mille Serradellapektin, 0,75 Proz. Pepton Witte, 1 pro Mille KH_2PO_4 und 0,5 pro Mille MgSO_4 enthielt, mit von 0,01—0,1 Proz. steigenden Mengen von Soda, sowie in einem Falle mit 1 Proz. kohlensaurem Kalk versetzt und mit der Reinkultur beimpft. Während nun von den unter O_2 -Abschluß gehaltenen Röhrchen dasjenige mit Kalk alsbald in lebhafteste Gärung geriet, ergab von den Sodaröhrchen nur das mit 0,01 Proz. Na_2CO_3 eine geringe Gasbildung und Entwicklung der eingepfachten Bakterien. Hieraus und aus zahlreichen anderen Versuchen ergab sich, daß für *Pl. pectinovorum* die günstigste Reaktion diejenige ist, die sich beim Kochen von KH_2PO_4 mit kohlensaurem Kalk ergibt, d. h. deutlich sauer gegen Phenolphthaleïn und nur sehr schwach sauer gegen Lackmus. Ueber den Einfluß stärkerer Säure wird später noch einiges anzuführen sein; sie ist im allgemeinen gleichfalls sehr schädlich.

Das Stickstoffbedürfnis von *Pl. pectinovorum* ist ein sehr großes und seine Empfindlichkeit gegen die Qualität des gebotenen Stickstoffes eine sehr hohe.

Aus zahlreichen Versuchen konnte mit Sicherheit das Resultat entnommen werden, daß die Reinkultur ausschließlich Eiweiß oder Albumosen (Pepton Witte) als Stickstoffnahrung verwerten kann, gleichgültig, welche Kohlenstoffquelle (Kohlenhydrate oder Pektin-

körper) dabei geboten wird. Weder Asparagin noch Ammonsulfat oder Salpeter können das Stickstoffbedürfnis des Mikrobs decken, auch nicht, wenn sie in variierenden Dosen gegeben wurden. Letzterer Umstand ist deshalb von Wichtigkeit und muß stets berücksichtigt werden, wenn ein endgültiges Urteil gefällt werden soll, ob ein Organismus irgend eine Stickstoffquelle verwerten kann, weil oftmals solche Körper wie Ammonsulfat oder Salpeter in den üblichen Dosen von $\frac{1}{2}$ oder 1 Proz. schaden, in schwächeren Dosen aber sehr gut benutzt werden können. Bei diesen Versuchen ergab sich das interessante Resultat, daß niederere Stickstoffverbindungen, die die Reinkultur von *Pl. pectinovorum* an sich nicht verwerten kann, ihr dann doch zugute kommen, wenn andere, diese Stickstoffkörper besser ausnützende Organismen zugegen sind. Ich kann mir nicht versagen, einen diesbezüglichen, sehr instruktiven Versuch hier näher anzuführen. Als Grundlösung wurde bei demselben 1 Proz. Traubenzucker, 1 pro Mille KH_2PO_4 , 0,5 pro Mille MgSO_4 und 1 Proz. kohlensaurer Kalk gegeben. Diese Nährlösung wurde zu je 10 cm in Reagenzgläser gefüllt und mit den untenstehenden Stickstoffmengen versehen. Nachdem die sterilisierten Lösungen mit der Reinkultur von *Pl. pectinovorum* beimpft waren, wurden sie bei O_2 -Abschluß in Buchnerschen Röhrchen bei 30° kultiviert. Nach 6 Tagen war der Versuch beendet und nunmehr wurden sämtliche Kulturen aus den Buchnerschen Röhrchen herausgenommen, mit zwei anderen nicht gärenden Organismen, dem auf p. 175 erwähnten *Oidium* und dem Kurzstäbchen mit gelben Kolonien, beimpft, und nunmehr bei O_2 -Zutritt bei 30° kultiviert.

(Siehe Tabelle S. 185.)

Aus diesem Versuch läßt sich also entnehmen,

- 1) daß die Reinkultur an sich als Stickstoffquelle nur Pepton verwerten konnte,
- 2) daß sie bei Gegenwart anderer geeigneter Organismen auch aus Asparagin und Ammonsulfat, nicht aber aus dem Salpeter Nutzen ziehen konnte.

Letzterer Fall hat natürlich nur so lange Geltung, als keine Bakterienart vorhanden ist, die den Salpeter in Eiweiß überzuführen vermag, im anderen Falle würde er dem *Pl. pectinovorum* wahrscheinlich ebenso sehr zu gute kommen, wie die übrigen Verbindungen. In allen diesen Fällen handelt es sich zweifellos um eine indirekte Ausnützung der gebotenen Stickstoffquelle, insofern dieselbe erst von den Nebenorganismen benutzt und der Stickstoff in Form von komplizierten Verbindungen, wahrscheinlich als Eiweiß, weitergegeben wird. Jedenfalls sind die hier geschilderten Verhältnisse von großem biologischen Interesse und werfen ein helles Licht auf die Beziehung der bei einem Gärungsprozeß auftretenden Organismen zueinander. Davon später noch Ausführlicheres.

Ähnliche Versuche mit anderen Kohlenstoffquellen ergaben stets das nämliche Resultat, so daß es feststeht, daß *Pl. pectinovorum* in seinem Gedeihen davon abhängt, ob ihm auf irgend eine Weise hochmolekulare N-Verbindungen, wie Eiweiß oder Albumosen, zur Verfügung stehen.

In nachstehender Tabelle bedeutet —: ohne Wachstum (ohne Gärung),
 +: spärliches Wachstum (geringe Gärung), ++: starke Gärung, +++: sehr
 starke Gärung, 0: Gärung beendet.

Beimpft am 8. April 1903, abends 6 Uhr, mit der Reinkultur von <i>Pl. pectinovorum</i> .						Am 6. Tage ferner beimpft mit zwei an sich nicht gärenden Organismen. Ergebnis nach 48 ^h
Ergebnis						
	nach 12 ^h	nach 16 ^h	nach 18 ^h	nach 42 ^h	nach 3 Tagen	
Pepton Witte	0,01 Proz.	—	—	—	getrübt	+
	0,05 "	—	—	+	+	++
	0,25 "	—	+	+	++	+++
	0,50 "	++	+++	+++	0	0—+
	1,00 "	++	+++	+++	0	0—+
	2,00 "	—	—	—	—	+++
Asparagin	0,25 "	—	—	—	ohne weitere Veränderungen	+
	0,50 "	—	—	—		+
Ammonsulfat	0,25 "	—	—	—		+++
	0,50 "	—	—	—		+
KNO ₃	0,25 "	—	—	—		—
	0,50 "	—	—	—		—

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

A bacterial disease of cauliflower (*Brassica oleracea*) and allied plants.

By **F. C. Harrison,**

Director Bacteriological Department, Ontario Agricultural College and
Experiment Station Guelph, Canada.

With 6 Plates.

(Conclusion.)

Carrot. In two days, there was abundant growth (both on the red and yellow portions of the carrot) which was transparent and very wet and the carrot had softened to a depth of 4 mm. The growth on the surface subsequently became whitish and complete softening occurred in 6 days. The yellow portion of the carrot was somewhat darkened. There was no smell.

Carrot (white). Abundant, whitish green, sputum-like growth, raised and wet. Outside the growth, there was a yellow to yellowish brown discoloration, especially around the vascular ring and softening had occurred to a depth of 5 mm. In 5 days, the slice was completely softened, and the odor was pungent.

Mangold. In two days there was a whitish growth on surface with slight softening. In 7 days, the softening had increased; but not to the same extent as on carrot or parsnip. There was also some discoloration.

Beet. No growth and no discoloration.

Sugar Beet. In 24 hours, no softening and no growth. In 48 hours, there was a very slight growth on the surface while the softening was scarcely 1 mm in depth. In three days, the growth increased, was white and moist; but there was very little, if any, increase in softening. No further growth took place even on slices kept for 10 to 20 days.

Potato. It grew with great rapidity on raw potato, in the form of a moist, creamy, yellow, spreading growth with marked softening. In five days, slices 20 mm thick were completely softened and could be cut with a platinum needle. There was a depression in the centre and an ammoniacal smell. Nessler's reagent gave a distinct coloration to a water extract of the inoculated potato — indicating the presence of ammonia. Tincture of iodine did not color the inoculated potato blue — the starch was, therefore, destroyed.

Celery. In two days, there was a moist whitish growth, with yellowish discoloration and considerable softening. In 7 days, the softening was more extensive and the discoloration brown.

Tomato (ripe). After two days, there was slight growth at seat of inoculation. In 7 days, there was rotting and cracking of the skin with whitish growth extending from the cracks. The inside was quite soft.

Green Tomato behaved in the same way, but growth was somewhat quicker. The first indication of the disease was slight discoloration, or premature ripening, of the inoculated part, followed by exudation of water, and softening and later, by cracking of the skin and progressive softening.

Artichoke (Jerusalem). In 24 hours, the surface growth, was moist and dirty white in color and there was softening beneath surface to a depth of about 7 mm. Outside the circle of growth the tuber had become red brown in color. In 48 hours, the softening was deeper with pitting of the affected portion. Color around the affected portion became reddish. In 4 days the whole tuber was soft.

Asparagus. The upper third portion of the Asparagus stem (the edible part) was the first to rot, presenting a water-soaked appearance. On the third day after inoculation, the middle third commenced to soften and on the fourth day, the lower third began to do the same. The pieces gradually collapsed, and a dirty white skin formed on the surface.

Horse radish. Softening of the tissue, even of the hardest and most woody parts, to a depth of 2—4 mm. occurred in 48 hours. There was a whitish growth on the surface, gas bubbles formed, and the centre of the stem fell in. The odor on the third day was quite pronounced and very objectionable.

Rhubarb. The organism grew on the cut surface of Rhubarb, only when the petiole was well saturated with water. There was a whitish growth on the surface, and softening, especially of the tissues between the bundles. Long, slimy threads, a foot or more long, were drawn out by touching the affected portions with the platinum needle.

Onion. On the slices of Onion, strongly acid to litmus, there was considerable growth in 24 hours. The tissue was softened and the parts affected were slightly yellow in color. In three days, the growth was quite yellow, a few gas bubbles were seen on the surface, the tissues were completely softened and there was a foul, nauseating odor.

Twelve onions, of three different varieties, were inoculated; but all rotted in the manner above described.

Morphology. The bacillus varies considerably in length. From agar cultures grown at 20° C for 24 hours the bacilli vary from 1—3 μ in length, the average is about 2 μ , the width 0,6 μ . In old (3 months) agar cultures the bacteria are shorter. In gelatine (3 days at 20° C) the average length is 1,4 μ , width 0,5 μ . In beef bouillon (48 hours at 25° C) the average length is 1,2 μ and the average breadth 0,7 μ . In wort (12,2 Ball.) the bacilli are longer, averaging 4 μ long and 1 μ wide. The longer rods are frequently bent and will stain deeper at the poles than at the middle.

On rhubarb the bacilli are short and plump and many are ovoid in shape. They are about 1,1 μ long and 0,8 μ wide.

In sections of diseased cabbage and cauliflower the bacilli vary greatly in length, averaging about 2 μ long and 0,6 μ wide.

The ends of the bacillus are always rounded, occasionally bent rods may be seen and short chains may form; but usually the bacillus occurs singly.

Flagella. The bacilli taken from agar cultures 24 hours old are very motile, as are also bacilli from other media (wort, gelatine, cauliflower). The linear progression is fast and the rotary motion of the cell is quite noticeable, the rear end of the motile rod moving in a larger circle than the front.

The bacillus has peritrichous flagella, seven to thirteen in number, which stain well by Van Ermengen's method (see Fig. 12).

Spores. No spores have been observed. Involution forms are commonly found. Thus the bacteria may be ovoid, or long and bent, occasionally club shaped individuals are seen.

Stains. The bacillus from gelatine cultures stains well with gentian violet, not so well when taken from agar. Carbolfuchsin gives good results, for cover glass preparations and also for sections of diseased tissues. It stains slowly with methylene blue. In three minutes the bacilli are only very faintly colored.

It does not accept Gram's stain.

Cultural characters.

Bouillon at 28° C. In 24 hours the culture was very turbid, no pellicle and heavy sediment. In 18 hours the turbidity increased. The sediment was heavier and flocculent masses were deposited on the sides of the tube. A ring formed at the surface. In three days a pellicle formed which settled on slight disturbance. In six days the pellicle and ring on undisturbed tubes were heavier.

Media remained turbid (4 weeks).

In Cabbage bouillon with 1 % of peptone the organism grew very well, and produced heavy turbidity and copious sediment in 24 hours, a slight ring formed at the surface on the fifth day, otherwise there was no change.

Gelatine. On plate cultures of nutrient gelatine the colonies were visible to the naked eye in 24 hours. They were punctiform and round. With 2:3 objective they appear round, homogenous, with weak refraction and entire edges. In 48 hours the surface colonies were 2 mm in diameter, liquefying, round, greyish white in color and with a ring in centre composed of deposited bacilli. Under the microscope (2:3 obj.) they were round, coarsely granular, the centre was grumose, and the edges slightly ciliate (Fig. D). Deep colonies were considerably smaller, less than 1 mm in diameter, round, internal structure moruloid, edges of some colonies were entire, others with effused growth. There was considerable variation.

In three days the surface colonies were from 3—5 mm. in diameter round, greyish color, liquefaction shallow, often with one or two concentric rings. Under the microscope the edges appeared ciliate, the centre moruloid, and the rest of the colony granular. The bacterial masses might be seen in motion.

The deep colonies were smaller with darker entire and ciliate edge, the fringe being longer and more wavy and interwoven than in the surface colonies.

In 4 days the colonies were larger in size otherwise there was no change.

In stich cultures at 20° C there was a white growth along the line of puncture in 24 hours. Slight liquefaction at the surface, 1—2 mm. in diameter, along the line of inoculation the growth was slightly heavier. In 4 days the liquefied area reached the sides of the test tube and thereafter liquefaction was stratiform.

There was often considerable difference in the rate of liquefaction, at times the whole tube might become liquefied, at other times only the half.

Wort gelatine. Stich cultures. The organism grew very well in this medium, with shallow pit liquefaction, followed by stratiform liquefaction to a depth of 5 mm. in 7 days (20° C). Growth stopped when about half the medium was liquefied.

Whey gelatine stich cultures. There was a crateriform depression, 12 mm in diameter, with deposition of a flocculent mass in the centre of the pit in 24 hours. In 48 hours liquefaction had extended to the sides of the tubes and downwards

to a depth of 2 mm. at the sides and 3 mm in the centre. In 3 days the liquefied portion was 5 mm. deep and growth ceased when 9 mm. deep. A few gas bubbles appeared in the gelatine at some distance from the line of puncture.

Agar. On agar plates at 28° C colonies were not characteristic. Surface colonies spread very fast, as thin grey expansions, which varied greatly in shape. Deep colonies were dense, punctiform, round, or elliptical; in fact, there seemed every variety of shape. Agar slope cultures at 28° grew very rapidly over the surface as a moist, thin, whitish growth, slightly opalescent by transmitted light. There was considerable deposit of the bacilli in the condensation water. The growth became more massive with age, otherwise there was no change.

Carbo-hydrate agars. Slope and shake cultures were made in agars containing 2% of the following carbo-hydrates — glycerine, saccharose, lactose, glucose and maltose. The media was made from Liebig's Extract of Meat, reaction neutral. Check cultures were made in agar without carbo-hydrates, no gas formed in these.

In glycerine agar the growth was more abundant and whiter than on plain agar. No gas in the shake culture and heaviest growth on the surface.

In saccharose agar amount of growth exceeded that on plain agar. In shake culture a few gas bubbles were present.

In lactose agar the growth exceeded that on plain and glucose agar and was more waxy looking. In shake cultures there were numerous lenticular gas bubbles. In 48 hours there was an increase in the number of gas bubbles, and the agar was rent across the tube. In 3 days the clear space between rents was wider, otherwise no change.

In glucose agar the growth was about the same as on plain agar, if anything, slightly heavier. Shake cultures contained small gas bubbles all through the agar. No further change after 3 days growth.

In maltose growth was very abundant, moist and shiny. There was more tendency to spread. Growth exceeded that on plain agar.

In shake culture a very few gas bubbles appeared in 24 hours. In 48 hours, a few more bubbles made their appearance and no further change took place after the third day.

Neutral red agar (with 2% glucose at 28° C). In 24 hours, there was no change in color, a white growth along the line of puncture and a moist white growth on the surface. A few gas bubbles were present. In 48 hours, there was no change in color but more growth. On the 6th day, the color was lilac violet and no further change occurred (20 days).

Milk. A number of milk tubes, + 1.5%, inoculated with 1 cese of a fresh bouillon culture and held at 25° C shewed no change for 24 hours. In two days the milk was thicker but did not coagulate until the third day. The curd was soft and even, but thicker at the bottom of the tube. On the fourth day,

the curd shrunk and on shaking, the whey separated out. The curd was flaky with a few gas bubbles in it. On the fifth day, the whey on the surface was clear and remained so. In 8 days, the curd shrunk and occupied one-third the depths of the medium. No further change took place. The whey from milk cultures tested for proteolytic enzymes, by means of the caustic potash and copper sulphate test gave a violet color indicating the presence of peptones. Another portion of whey was mixed with ammonium sulphate to precipitate the proteids and the filtrate from this precipitate was also tested in the same way and with the same results.

The odour of milk cultures after heating was agreeable resembling cheese curd. No odour could be noticed in the old cultures.

The viability of the organism in milk was as follows: Cultures 25 days old, living; 35 days old, living; two months old dead.

Litmus milk at 25° C. In 24 hours, the color compared with the control tubes was appreciably different. In 48 hours, the color was lighter between lilac and livid (Saccardo 48 and 49) the milk was thick but not coagulated. In 3 days, the milk coagulated into a soft even curd with about 10 mm. of whey on the surface and a few gas bubbles in the coagulum. Colour lilac (Saccardo 48), in 4 days, the curd had shrunk leaving a clear whey on the surface. The curd when shaken separated into flaky masses and gas bubbles were fairly numerous through the curd and on the surface. The colour of the curd at the bottom of the tube was white, the upper portion, lilac. On the fifth day, the whey was slight tinged with colour; the lower half of the curd was white and the upper half, lilac. On the eighth day, there was only a small red ring of colour at the top of the curd. On the twelfth day, the lilac colour again returned.

Blood serum at 25° C. On blood serum good growth occurred -- first, as a moist slightly spreading growth, later becoming heavier, more opaque and opalescent by transmitted light. The condensation water was turbid. Slight liquefaction was visible on the 8th day, and in 21 days most of the sloped surface became liquid and no further change occurred. The bacilli from blood serum shewed banded and bipolar staining with carbol-fuchsin.

Egg media (Dorset's method). Good growth occurred on egg media, spreading over the entire surface. No liquefaction occurred in 24 days and the growth was not characteristic.

Dunham's solution at 25° C. In Dunham's solution there was slight growth and uniform turbidity in 24 hours, the cloudiness increased and a slight sediment formed which became flocculent in 4 days. 8 day cultures gave a very slight indol-reaction, while in 15 day cultures the reaction was more marked.

In Dunham's solution with Rosolic acid (in the same proportion as used by Jones), the salmon pink colour almost entirely faded in 24 hours. In 48 hours, the tubes were quite decolorised and remained so (3 months). Rosolic acid bouillon was decolorised in the same way. This change shewed the formation of acid.

Synthetic media. In Ushinsky's medium there was turbidity with some sediment in 24 hours at 25° C. A slight pellicle formed in 48 hours, and the body of the medium became more turbid with increase of sediment. In 7 days there was a thick pellicle and heavy sediment but the body of the liquid was almost clear. In 15 days the pellicle gradually sank, the body of the liquid was pale yellow, and there was a copious sediment.

In Fermi's medium, there was slight turbidity in the upper third of the medium and a very slight sediment in 24 hours at 25° C. A thin pellicle formed in 48 hours and the top of the liquid was very cloudy, on shaking the pellicle produced turbidity throughout the entire medium. The growth at 4, 7 and 15 days resembled the growth in Ushinsky's medium.

In lager beer wort, 12,2 Ball. good growth occurred, at first turbid and with considerable sediment. The liquid was several shades lighter in color, and a few gas bubbles were seen. In three days, the wort was quite clear, with heavy fine sediment and no pellicle. No further change occurred.

Cooked vegetables. Generally speaking the growth on cooked vegetables was abundant, but the softening action of the organism on the cooked vegetables was not always as marked as its action on raw vegetables; in other words the production of cytase was more marked when the organism was placed upon slices of raw vegetables.

Potato prepared according to Roux's method, reaction slightly acid to litmus. In 24 hours there was a moist, shiny, spreading growth distinguishable from the potato by the glistening appearance. The growth became more massive and on the drier slices the growth was more waxy looking, and straw coloured. No further change occurred and the potato slice was slightly softened, it could never be cut quite through with the platinum needle.

On potato cylinders prepared by immersing half the slice in water, the growth was moist and spreading. The water was at first turbid with much sediment, consisting of particles of softened potato, pure white in colour. In 7 days the liquid became yellow in colour and the sediment was pure white. Gas bubbles were also present.

The immersed portion of the cylinder was softened, but in 20 days the core above the water was still firm and could not be cut with the platinum wire, a control test on raw potato from the same source caused complete softening of the tissues in three days.

In other tests of potatoes there were minor differences. Thus the growth would be dirty yellow, or honey yellow in colour, and the moist and glistening appearance on some potatoes would be changed to a dull waxy looking growth.

Differences in the rate and extent of softening also occurred. In all some 60 tests were made on potatoes.

On cooked carrot at 28° there was a moist spreading growth with complete softening in three days.

On cooked sugar beet there was a flat, shiny, moist growth; gas bubbles were present, and the cylinder was completely softened in 4 days.

On cooked beet-root there was a whitish spreading growth, the beet was discoloured (brown-green), and there was a white, slightly raised, moist growth, with complete softening.

On cooked onion there was a moist dirty white growth, the onion was completely softened and fell to pieces. The odour was foul and nauseating.

Temperature relations.

The optimum for growth was about 30° C, there was fast growth at 25° to 28°. Good growth occurred at 20°, and at 37,5° C. the growth was better than at 20°.

The maximum temperature was in the neighborhood of 42° C.

The minimum temperature was in the neighborhood of 5° C.

Thermal death point. The thermal death point was determined by Sternberg's method. The temperature of the bath during the time of exposure varied about 0,25 of a degree. A temperature of 55° for 10 minutes in beef bouillon killed the organism in all cases.

Relation to free oxygen. The aerobic growth was better than the anaerobic, but the organism grew in the closed arm of fermentation tubes, and in deep stich cultures.

Agar, potato, gelatine slope and litmus milk cultures were grown for 8 days in a Novy jar in an atmosphere of hydrogen.

There was slight growth limited to the needle track on the agar slope; slight growth but no liquefaction of the gelatine slope culture; very slight growth on the potato; slight growth and change of colour in milk, but no coagulation: The cultures when taken out of the Novy jar grew vigorously. The bacilli from the agar culture were rather shorter, averaging about 1,5 μ in length.

Nitrate broth at 25° C. In nitrate broth growth was better than in Dunham's solution. The media becomes turbid with first a fine and later a flocculent sediment. No pellicle formed.

The tests for nitrites on the 9th day were negative, on the 15th day there was a faint pink tinge with the naphthylamine and sulphanilic acid test. Control tubes kept under the same conditions gave no indication of nitrites.

Indol production. See Dunham's solution.

Developments of odours. The strongest and most offensive odour developed on onions, both raw and cooked. There were objectionable odours from cultures on cabbage, cauliflower, horse radish, rape and turnips.

The odour on white carrot was pungent. Milk cultures when heated give an odour of fresh curd.

Production of hydrogen sulphide. Strips of filter paper moistened with lead acetate were suspended over bouillon

and potato cultures. In both cases the paper turned black indicating the production of hydrogen sulphide.

Production of acid. Acid was produced in all sugar media, in milk, in Dunham's solution, and in bouillon.

Production of alkali. Ammonia was produced in potato cultures in considerable amount, it could be detected by the smell, as well as more exactly by Nessler's reagent. Cultures on several other vegetables (turnips, carrots, beets) also gave the Nessler reaction.

Relation of growth to acid and alkali. Various quantities of normal sodium hydrate and normal hydrochloric acid were added to neutral broth. The following results were from 48 hours old cultures kept at 28° C.

Neutral broth turbid and considerable sediment.									
Alkaline broth	10 ccm of normal NaOH	per litre:	Same as neutral tubes.						
"	"	10	"	"	"	"	"	"	"
"	"	20	"	"	"	"	"	"	"
"	"	30	"	"	"	"	"	"	"
"	"	40	"	"	"	"	"	"	"
"	"	50	"	"	"	"	"	"	"
Acid	"	10	"	"	"	HCl	"	"	"
"	"	20	"	"	"	"	"	"	"
"	"	30	"	"	"	"	"	"	"
"	"	40	"	"	"	"	"	"	"
"	"	50	"	"	"	"	"	"	"

Turbid and slight sediment.

Very slight turbidity.

Quite clear, no growth.

Turbidity greater than in control.

Same as neutral tubes.

Slight turbidity.

Very slight growth.

Effect of sunlight. Cover glass preparation made from 24 hours old bouillon culture and exposed to direct sunlight gave the following results:

15 minutes	{ +	30 minutes	{ +
45 "	{ +	1 hour	{ +
1.15 hours	{ +	1.30 hours	{ -
1.45 "	{ -	2 "	{ -

+ } = living on some cover glasses but dead on others.
 - }
 + = " " " " "
 - = dead.

Agar plates inoculated with 1 oese of a fresh bouillon culture and exposed to direct sunlight gave the following results:

Control plates not exposed 1200—2000 colonies per plate.				
Plates exposed	15 minutes	{ centre 2—5	colonies per plate.	
"	"	{ edge 220—400	"	"
"	30 "	{ centre 0—10	"	"
"	"	{ edge 130—200	"	"
"	45 "	{ centre 0—1	"	"
"	"	{ edge 10—60	"	"
"	1 hour	{ centre 0	"	"
"	"	{ edge 10—60	"	"
"	1.30 hours	0	"	"
"	2 "	0	"	"

Zweite Abt. Bd. XIII.

13

The plates were exposed in the afternoon between 2 and 4 pm, in the month of October. Temperature of the plates, 30° C. Latitude 43,3°.

Resistance of the organism to dessication. For determining the resistance to dessication cover glass preparations were made from a 24 hours old bouillon culture and exposed to the light in a room for various periods of time. Under these conditions the bacillus was killed after two days exposure.

Growth in fermentation tubes. The foundation medium was composed of 1 % peptone, 0,25 % Nährstoff Heyden, and 5 % salt, with the reaction carefully neutralised to phenolphthalein. 2 % of the following sugars, saccharose, lactose, glucose, was added to the above medium, and the tubes sterilised at 100° C on three successive days.

Saccharose bouillon, both arms of the tube became cloudy, considerable sediment formed but no pellicle. Reaction after 10 days growth 1,8 %.

Lactose bouillon. After 24 hours both arms of the tube became cloudy, the closed one with less turbidity, there was some sediment ut no pellicle or gas. After 48 hours, the amount of sediment increased and 1 % of gas formed, subsequently the closed arm became clear, but there was no increase of gas. Reaction after 10 days growth 1,43 %.

Glucose bouillon. There was more growth in this medium than in the others, 0,5 % of gas collected on the 2nd day, with no subsequent increase. Sediment very copious. Reaction after 10 days growth 1,8 %.

Enzymes. Proteolytic enzymes, diastase, cytase, are produced by the organism. Evidence as to the formation of these enzymes is afforded by the following experiments.

Proteolytic enzymes. These enzymes are produced in small quantities. Gelatin is slowly liquefied, blood serum even more slowly, milk is partially peptonized.

Fresh milk serum sterilized by filtration was inoculated with a culture of the bacillus, and the medium held at 25° C for 10 days. At the end of this time a portion tested for peptones gave the biuret reaction. The proteid bodies except peptones in the larger portion were precipitated with ammonium sulphate and the filtrate treated with caustic potash solution and copper sulphate gave a violet colour indicating the presence of peptones.

Diastase. Diastase was produced in small quantities in ordinary bouillon. Equal parts of sugar free starch paste were mixed with a 10 day old bouillon culture and left at 25° C for 12—24 hours. A test of the filtrate of the mixture with Fehling's solution showed small traces of sugar to be present.

The organism when grown on potato also destroyed starch. Slices of raw potato inoculated with the organism did not give any coloration when tread with iodine, which indicated the destruction of the starch.

Cytase. The greatest interest in³ this organism is its power

of destroying the cell walls of various plants. The quick spreading nature of the rot shows that the cell wall destroying enzyme must be elaborated in considerable amounts.

This enzyme was isolated in the following manner: Sound potatoes were peeled and pieces cut out of the centre with sterilized knives. These pieces were scorched over the naked flame of a Bunsen burner and then dropped into wide mouth sterilized flasks containing 50—200 ccm of sterilized distilled water.

This operation, although carefully carried out in a chamber washed with corrosive sublimate, was not always successful as a number of flasks became contaminated with foreign organisms; however, some flasks were obtained which contained nothing but *B. oleraceae*, and these, after incubation at 25° C for 10 days, were emptied into a fine sterilized cloth and the juice pressed out.

This juice was then filtered through absorbent cotton and treated with 4 times its bulk of 94 % alcohol, which gave a fine cloudy precipitate. The mixture was frequently shaken and was left at room temperature for 24 hours. After the final shaking the precipitate was allowed to sediment for 12 hours when the supernatant liquid was siphoned off, and the sediment collected on a hard filter paper, washed with alcohol, dried and then a hole was made in the filter and the precipitate washed off into a sterile flask with sterilized distilled water. This solution was then forced through a Chamberland filter, collected in a sterile flask and 5 ccm. portions of the liquid filled into sterilized test tubes. The liquid was clear, with a yellowish tinge and was quite sterile (no turbidity after incubation at 25° C).

Twenty test tubes were thus obtained and 8 of them were treated as follows:

4 were heated to a temperature of 65° C for 10 minutes.

4 " " " " " " 212° " and then cooled.

Small slices of potato and white turnip were then cut with sterile knives and introduced into the tubes which were placed in a thermostat at 20° C. At the end of 24—36 hours the tubes were carefully examined and those that showed bacterial contamination were put aside. The small pieces of tissue were fished out with a sterile spatula and then placed on a slide, a coverglass placed on top and the preparation examined under the microscope. The sections of turnip and potato in the boiled and heated tubes were unchanged, they were firm, the cell walls unaltered with sharp outlines, and about 2—3.5 μ in width. The tissues in the unheated tubes were very soft, much swollen, and in some cases quite disintegrated. The cell walls were much enlarged, some striated and from 5—8 μ in thickness.

This experiment shows that *B. oleraceae*, secretes a cytase which has a very powerful action on the cell wall and particularly on the middle lamella.

Conditions affecting the spread of the disease.

1) **Meteorological conditions.** The weather of July, August, and part of September was very favourable for the growth and spread of both fungus and bacterial diseases. In Ontario, the Rust on cereal crops was very bad. Many newspapers spoke of the grain "being blasted in a single night".

The Toronto Meteorological Register shows that July and August, 1901, were warmer and rather moister than the average; in the month of August when the cauliflower disease was noticed, the average humidity was 86, and the rainfall 3.67 inches. The temperature also was high. Very many mornings in July and August, the dew was so heavy that, in spite of great heat, one could get quite wet when walking through the rows of cauliflowers, in the afternoon. An examination of these plants in the field showed that the base of the plant, or the juncture of the petioles of the leaves with the stem, contained considerable water and in most cases particles of soil and if the organism exists in the soil, which is probably the case, it would be in a favourable situation to cause infection.

The warm weather, combined with excessive moisture, both of the soil and the exterior of the plant, and the fact that transpiration would be checked by this condition, and consequently the plant-cells themselves would be full of sap, undoubtedly played an important part in the spread of the rot amongst the cauliflowers and turnip. In short, we can state that the atmospheric conditions were ideal for vigorous bacterial growth, and that these meteorological conditions have considerable influence on the ease with which the bacillus penetrates the plant.

2) **Rankness of growth.** The weather conditions above mentioned, and the plentiful use of manure by market gardeners, favor very quick, rank growth. The plants most affected were large, heavy and with many leaves shading the surrounding soil, thus conserving moisture and promoting quick growth.

3) **Abundance of insect pests.** The disease is chiefly spread by means of infection from wounds, and under field conditions these are usually produced by insects, especially the Cabbage-worm (*Pieris brassicae*) which was very numerous upon cabbage and cauliflower leaves. A careful examination of over 100 plants showed that one or more larvae were present on each plant. Slugs also do considerable damage to these plants, and obviously smear themselves with a number of soil organisms, as I have already mentioned, the *Bacillus oleraceae* is probably a soil organism.

Ants and other insects swarm around diseased turnips, eating the rotted pulp, and no doubt serve to carry the germs to other plants.

4) **Injury from planting, cultivation or wind.** Leaves of turnips are frequently bruised or injured during cultivation, by either hand or horse hoes. Cauliflowers may be injured during planting out, and the infecting organism brought into contact

with the broken surface. In cases of very rank growth, a heavy wind may cause leaves to be broken off, and thus afford bacteria a chance to penetrate into the plant tissues. Many gardeners trim their cauliflowers on the field, and when these are infected they carry the disease on to another season. The same ground is often used year after year for the same crops, a dangerous procedure when disease is present, as it is likely to make the trouble endemic.

5) Susceptibility of varieties. According to the limitations placed upon the meaning of Resistance and Immunity in plants by Russell, we shall define Resistance as the "inherent power of the vegetable organism to withstand the action of bacteria in general"; and immunity as "the ability of the organism to repel the attacks of a germ which produces a pathological condition in a closely allied form".

We find that white turnips and cauliflowers are very susceptible to inoculations of *Bacillus oleraceae*, whether carried out in the laboratory, or met with under field conditions. Our laboratory experiments were all carried out on the Greystone variety of White Turnips, which, under field conditions, seems to have some immunity; but which readily succumbs to artificial inoculations. We have kept careful record of the amount of disease present among the different varieties tested on our trial grounds.

Bacteriological examination of the disease present in the different varieties showed that we were working with the same bacterial disease. The amount of disease present is shown in the following list of varieties:

Immune: Jersey Navet.

Less than 5 % rotted: Greystone Improved, Purple Top Mammoth, Early American Purple Top, Red Top Strap Leaf, White Flat Dutch Strap Leaf, White egg, White Lily, Warly La Crosse, Red Top White Globe, Rennie's Selected White Globe, White Top Strap Leaf, Hurter's Purple Top Globe.

Between 5 and 15 % rotted: White Stone, Cow Horn, Yellow Stone, Green Barrel, Lutton's Imperial Green Globe, White Six Weeks, Milk Globe, Orange Sweet, Long Tankard, Sutton's Favorite P. T. Yellow Hybrid, Sutton's Perfection Green Top Hybrid, Yellow Finland, Large White Norfolk, Sutton's Purple Top Scotch.

Between 15 and 30 % rotted: Early Purple Top Murrich, Pomerawan White Globe, Red Globe Norfolk, Purple Top Hybrid, Jersey Lily, Early White Model, Extra Early Milan.

Between 30 and 50 % rotted: Orange Jelly, Imperial Green Globe, All Gold, Yellow Globe.

Between 50 and 65 % rotted: Yellow Aberdeen Green Top, Yellow Aberdeen Purple Top.

Explanation of figures.

Fig. 1. A healthy Cauliflower plant; uninoculated and grown under the same conditions as the inoculated plants.

Fig. 2. Cauliflower plant inoculated from a pure culture of *B. oleraceae* by means of a single needle prick at the base of the petiole. At the end of 6

days. Note the fallen leaf, wilted appearance of the leaves on the left side and the blackened stem above the fallen leaf.

Fig. 3. Cauliflower plant inoculated from a pure culture of *B. oleraceae* by means of a single needle prick at the base of a petiole. Shows the rotting of the flower. 10 days after inoculation.

Fig. 4. Cauliflower plant inoculated by placing a piece of softened tissue, taken from the interior of an affected inoculation petiole, on the surface of the healthy flower. The flower is reduced to a pulpy, black mass. 5 days from time of inoculation.

Fig. 5. A White Turnip plant inoculated at the crown from a pure culture of *B. oleraceae* by means of 2 needle punctures. The photograph shows the plant 9 days after inoculation.

Fig. 6. A turnip plant cut in half in order to show the extent of the rotting process. 6 days after inoculation with *B. oleraceae*, by 1 needle puncture.

Fig. 7. A turnip plant cut in two in order to show the almost complete rotting. 10 days after inoculation with *B. oleraceae*, 1 needle puncture at the crown.

Fig. 8. The edible portion of a cauliflower cut in two with a sterilized knife and inoculated with a pure culture of *B. oleraceae* by means of a single needle prick in the centre of the flower. Note the blackened portion which was softened to a considerable depth and also the water drops upon the blackened area.

Fig. 9. Cross section of part of the petiole of a diseased cauliflower inoculated with a pure culture of *B. oleraceae*. Note the bacteria in the intercellular spaces and their penetration along the middle lamella.

Fig. 10. Cross section of the petiole of cauliflower plant inoculated with a pure culture of *B. oleraceae*. At a later stage than Fig. 9, showing the almost complete collapse of the tissues, the enlarging and softening of the cell walls and the great increase in the number of bacteria.

Fig. 11. Cross section of a piece of turnip. This was taken from a plant inoculated with a pure culture of *B. oleraceae*. Note the disorganisation of the cells and the large numbers of bacteria in the intercellular spaces.

Fig. 12. *B. oleraceae*. The flagella stained by Van Ermengen's method. The bacteria were taken from an agar culture 18 hours old.

Fig. A. Cross section of part of cauliflower petiole. Camera lucida $\times 560$.

Fig. B. Cross section of part of cauliflower stem. Camera lucida $\times 560$. Note the swelling the cell walls, the penetration of bacteria along the middle lamella. Small fragments of the interior of cell wall may be seen in places.

Fig. C. Cross section of part of cauliflower stem. Camera lucida $\times 560$. The swelling of the cell walls is very marked scarcely a trace of the cell walls is visible. The bacteria have increased in numbers.

Fig. D. Gelatine colony: 2 days. Leitz $\frac{2}{3}$ obj. 3 oc.

Nachdruck verboten.

Die Bakterienflora gesunder Samen und daraus gezogener Keimpflänzchen.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des eidg. Polytechnikums in Zürich.]

Vom Assistenten Dr. **Max D üggeli**.

(Schluß.)

Ansprüche an Nährböden und Sauerstoffzutritt. Auf sämtlichen gewöhnlichen Nährböden gut gedeihend; bezüglich der notwendigen Stickstoff- und Kohlenstoffquellen sei auf das früher Gesagte verwiesen. Bevorzugt den ungehinderten Sauerstoffzutritt, wächst aber in Stichkulturen gleichmäßig im ganzen Stich und ver-



Fig. 1.



Fig. 3.



Fig. 2.

Verlag von **Gustav Fischer** in Jena.



Fig. 4.



Fig. 5.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

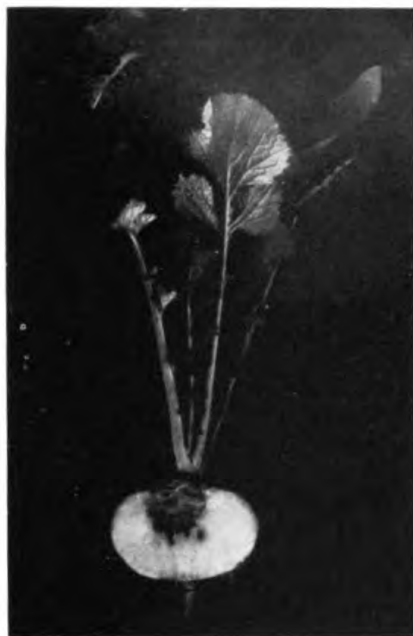


Fig. 6.



Fig. 7.

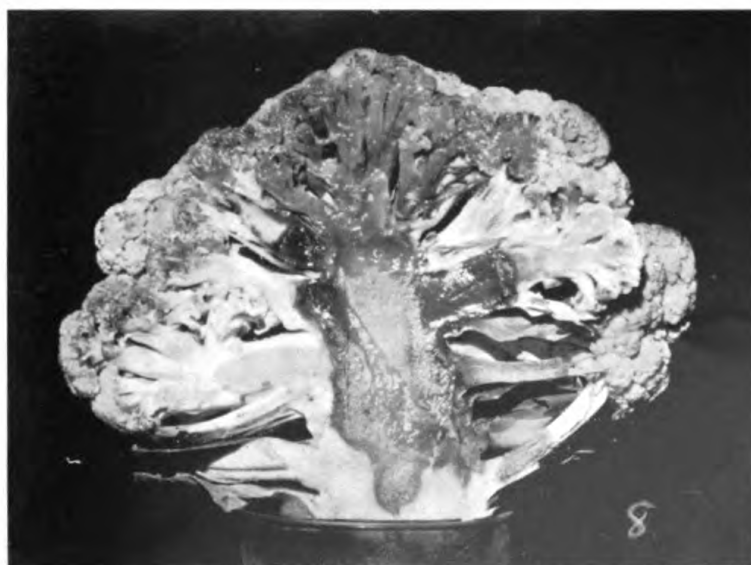


Fig. 8.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

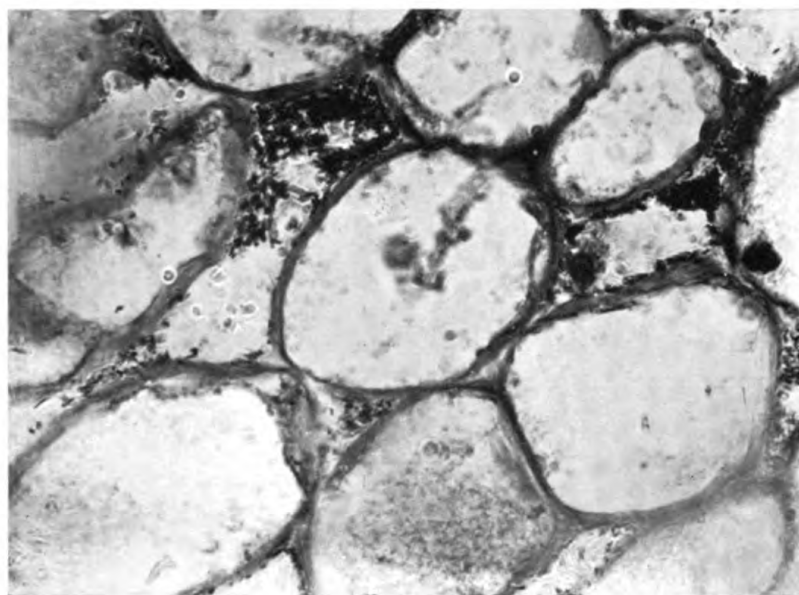


Fig. 9.



Fig. 10.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena**.

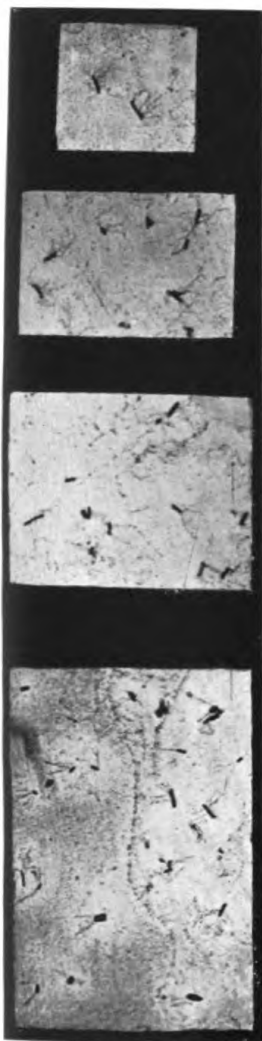


Fig. 12.

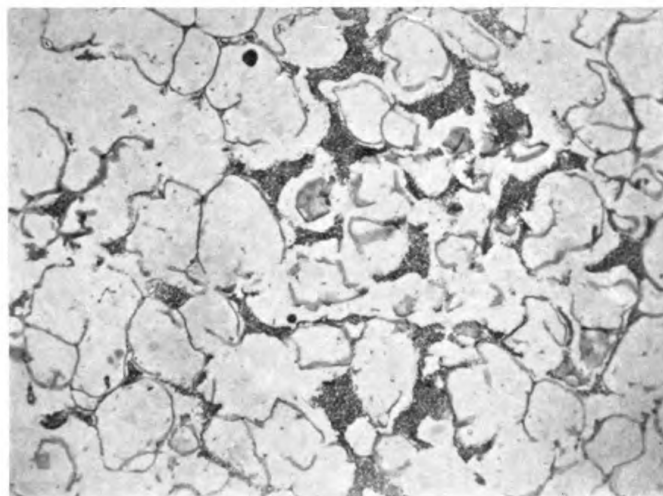


Fig. 11.

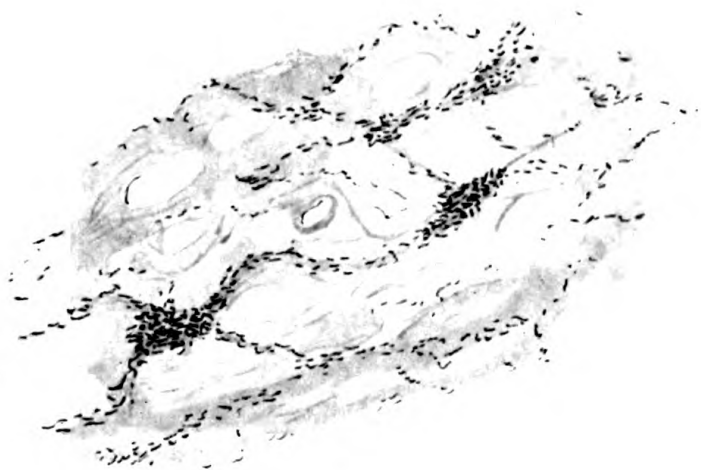


Fig. C.



Fig. D.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

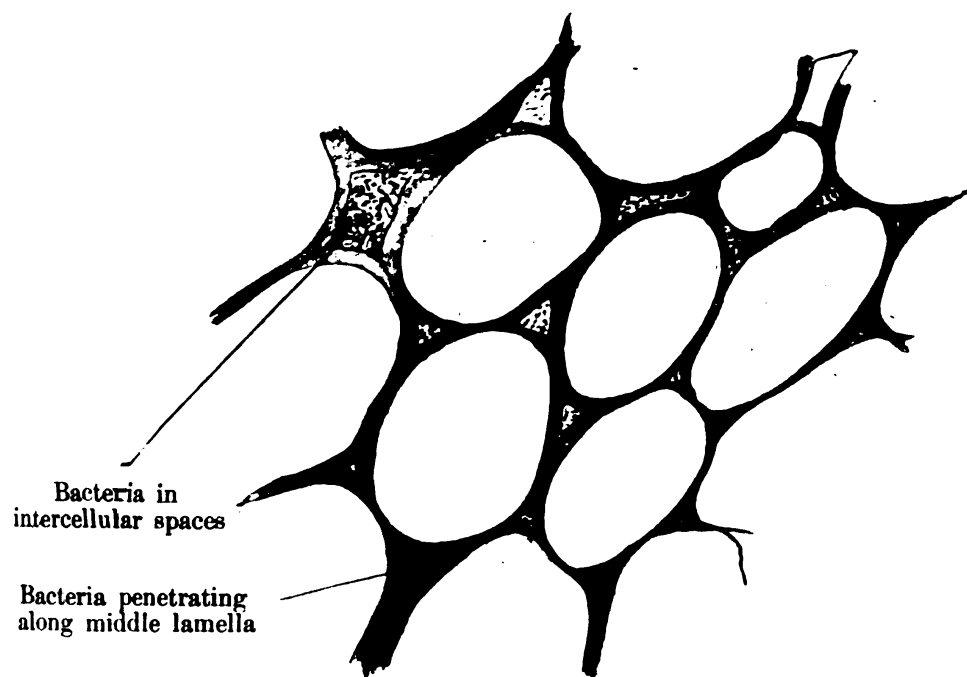


Fig. A.



Fig. B.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

mag in hoher Schicht auch in den untersten Partien gut ausgebildete Kolonien zu entwickeln.

Gelatineplatte: Schon nach 36 Stunden tritt bei Zimmertemperatur deutlich wahrnehmbares Wachstum auf. Die Oberflächenkolonien sind auf dünnbesetzten Platten nach 48 Stunden grauliche, ins bläuliche schimmernde, scharfrandige, durchscheinende Tröpfchen von $\frac{1}{2}$ —1 mm Durchmesser, gewöhnlich nicht kreisrund, sondern seicht gebuchtet. Mit zunehmendem Alter werden sie fein- bis grobkörnig und nach 2—4 Tagen treten in der inzwischen goldgelb gewordenen Kolonie runde oder gedrunge wurstförmige Zoogloen in wechselnder Zahl auf. Die Gelatine wird langsam erweicht, so daß die Kolonien mehr oder weniger deutlich in einer Mulde liegen und die umgebende Gelatine beim Berühren mit einer Platinnadel sichtlich erweicht ist. Wir konnten aber auch an älteren bei 16—18° C aufbewahrten Gelatineplatten nie ein eigentliches Flüssigwerden, sondern nur ein Erweichen derselben konstatieren, gepaart mit Schleimigsein der Kolonie, das oft an Fadenziehen grenzte. Ein mit *Bact. herbicola aureum* geimpftes, 10 ccm Gelatine enthaltendes Gläschen bei 30° C aufgestellt, wurde nach 6—7 Tage dauerndem Wachstum in kaltem Wasser nicht mehr fest, sondern blieb infolge der Tätigkeit der Stäbchen flüssig. Bisweilen konnte bei den Zoogloen radiale Anordnung oder eine solche in konzentrischen Ringen beobachtet werden, doch erwies sich diese Eigenschaft nicht als konstant und meistens liegen die Wuchsverbände regellos in der Bakterienmasse, doch nie nahe dem Rande. Die Tiefenkolonien sind entsprechend kleiner als die Oberflächenkolonien, anfänglich weiß, später goldgelb, kreisrund, oval bis wetzsteinförmig oder auch von gänzlich unregelmäßiger Gestalt, stets aber fein- bis grobkörnig, in älteren Platten gedrängt voll Zoogloen. Bei schwacher Vergrößerung mit dem Mikroskop betrachtet erscheinen sie bräunlich. Sobald die Tiefenkolonien durch ihr Wachstum an die Oberfläche gelangen, breiten sie sich daselbst rasch aus und sind nur noch durch die in der Tiefe sitzende Mutterkolonie von den typischen Oberflächenkolonien zu unterscheiden.

Gelatinestich: Gutes Wachstum im ganzen Stich, an der Oberfläche nagelkopffähnliches Wachstum in graulicher, später goldgelber Auflagerung. Die Gelatine sinkt bei der langsamen Verflüssigung allmählich ein, so daß die oberflächliche Auflagerung schließlich in den Grund einer napfförmigen, mit Luft gefüllten Vertiefung zu liegen kommt. Die Gelatine wird in Berührung mit der Bakterienmasse erweicht, nicht aber verflüssigt.

Agarplatten bei 30° C. Nach 16 Stunden ist schon Wachstum deutlich wahrzunehmen. Die Entwicklung der Kolonien ist ganz ähnlich wie bei den Gelatineplatten, nur der höheren Temperatur entsprechend schneller, und das Aussehen stimmt ebenfalls überein mit dem einzigen Unterschied, daß die Tiefenkolonien auf Agarplatten stets oval bis wetzsteinförmig, nie von gänzlich unregelmäßiger Gestalt sind.

Traubenzuckeragarstich: Reichliches Wachstum im

ganzen Stich, oberflächliche graugelbe, glänzende Decke; nur bei einem Stamme wurden zwei kleine Gasblasen gebildet.

Traubenzuckeragar - Schüttelkultur: Gleichmäßige grauliche Trübung des Agars durch die gebildeten Bakterienkolonien, die an der Oberfläche eine graugelbe glänzende Decke bilden. Nur bei dem auf Stich schwach Gas bildenden Stamm wurden 3 Gasblasen konstatiert.

Agarstrich bei 30°. In jungen Kulturen graulichgelbe, glänzende, dünne Decke mit schwach gelapptem Rande, Kondenswasser mit verschleimter Bakterienmasse erfüllt; in älteren (ca. 3 Tage alten) Kulturen geht die graugelbe Farbe in ein hübsches Goldgelb über.

Agarstrich bei 37°. Das Bild entspricht ganz demjenigen bei 30°, nur daß das Wachstum und die Gelbfärbung rascher eintritt.

Bouillonkultur: Zarte oberflächliche Haut, die beim Schütteln rasch zu Boden sinkt, gelblich getrübe Flüssigkeit mit mehr oder weniger leicht in Flocken zerteilbarem, schleimigem, grauem Bodensatz.

Kartoffelkultur: Goldgelbe, saftig glänzende, $\frac{3}{4}$ bis 1 mm dicke Auflagerung, am Rande nicht scharf abgegrenzt mit zahlreichen unregelmäßigen Lappen. Das Kartoffelstück ist um die Auflagerung herum schmutzig verfärbt. Schwacher, angenehm brenzlicher Geruch, sowie kleine Fettröpfchen können bemerkt werden.

Milchkultur: Die Milch bleibt entweder ganz unverändert, wobei sich aber die Rahmdecke meist goldgelb färbt oder sie gerinnt durch Säureproduktion unter Bildung einer dünnen Serumzone, ohne daß nachträglich Peptonisierung eintreten würde.

Chemische Leistungen: In Bouillon mit Phenolphthaleinzusatz wird etwas Säure gebildet, so daß in 14 Tage alten Kulturen zum Wiederherstellen des ursprünglich roten Farbstoffes 1,5 ccm $\frac{1}{4}$ Normalnatronlauge notwendig sind. Harnstoff wird nicht unter Bildung von Ammoniak zersetzt, in Nitrattbouillon dagegen das Nitrat teilweise in Nitrit übergeführt. In 6 Tage alten Bouillonkulturen tritt die Indolreaktion stark ein.

II.

Neben *Bact. herbicola aureum*, *Bact. fluorescens* und *Bact. putidum* ist das im folgenden näher zu beschreibende Stäbchen auf Samen, Früchten und Keimpflanzen öfter zu treffen. Wir schlagen vor, diese noch nicht beschriebene Art zufolge ihrer nahen Verwandtschaft mit der unter I. charakterisierten Species *Bacterium herbicola rubrum* n. sp. nennen zu wollen. Sie bildet wie *Bact. herbicola aureum* typische Zoogloen und reichlich Bakterienschleim, wächst aber neben anderen unterscheidenden Merkmalen auf Kartoffel als manganroter Belag.

Mikroskopisches Aussehen: 1—2 μ lange und 0,5—0,6 μ breite Stäbchen, einzeln oder zu zweien, an den Enden bisweilen etwas stärker lichtbrechend. Ueber die Zoogloenbildung gilt das bei *Bact. herbicola aureum* Gesagte. Sporenbildung konnte nicht festgestellt werden.

Eigenbewegung: Die Großzahl der Stäbchen ist auch in jungen Kulturen gänzlich unbeweglich, doch konnten wir selten ein Präparat im hängenden Tropfen durchmustern, daß nicht mehr oder weniger zahlreiche Individuen rasch geradlinig hin- und herfahrend das Gesichtsfeld durchquert hätten.

Färbbarkeit: Die gebräuchlichen Farbstoffe werden gut aufgenommen, nach Gram aber sind die Stäbchen nicht färbbar.

Ansprüche an Nährböden und Sauerstoffzutritt: Auf allen gewöhnlichen Nährböden gut wachsend, ist das Gedeihen besonders bei ungehindertem Zutritt von Sauerstoff ein freudiges, in den Stichen und in hoher Schicht ist aber in allen Lagen Wachstum zu konstatieren.

Gelatineplatte: Auf dicht besetzten Platten erscheinen schon nach 24 Stunden Kolonien, die in der Folge als Oberflächenkolonien zu kreisrunden, ganzrandigen, graulich glänzenden Auflagerungen auswachsen. Ist die Platte nicht dicht besetzt, so haben die Oberflächenkolonien nach 4 Tagen einen Durchmesser von 4—6 mm, sind im auffallenden Licht graugelb, im durchfallenden dagegen bläulich schillernd; am Rande sind sie mehr oder weniger stark lappig. Im Innern der Kolonien, nicht aber in den Randpartien, sind zahlreiche gedrungene wurstförmige Zoogloen, oft von bedeutender Größe. Nur vereinzelt zeigen diese Wuchsverbände eine radiale oder konzentrische Anordnung, meist liegen sie regellos in der Bakterienmasse, doch nie in unmittelbarer Randnähe. Die Tiefenkolonien sind graugelb und erscheinen in der Gelatine wie ein Stückchen feinstes Konglomerat. Sie sind grobkörnig, reich an Zoogloen und wachsen, an die Oberfläche gelangt, zu lappigen Kolonien aus. Nie konnte beobachtet werden, daß Oberflächen- oder Tiefenkolonien in einer Verflüssigungsmulde liegen oder die Gelatine auch nur schwach erweichen.

Gelatinestich: Gleichmäßiges Wachstum im ganzen Stich, oberflächlich eine nagelkopffähnliche, graugelbe, am Rande lappige Auflagerung. Geimpfte und bei 30° aufbewahrte Gelatine erstarrte nach 12 Tagen im kalten Wasser wieder vollständig; die Art ist also nicht gelatineverflüssigend.

Agarplatte: Die Oberflächenkolonien sind kreisrund, scharf abgegrenzt, bei auffallendem Licht graulich glänzend, im durchfallenden aber bläulich schimmernd. Typische Zoogloen sind reichlich vorhanden z. T. in recht großen Exemplaren. Die Tiefenkolonien sind oval bis wetzsteinförmig, gewöhnlich infolge der zahlreichen Bildung von Zoogloen grobkörnig erscheinend.

Traubenzuckeragarstich: Gleichmäßiges Wachstum im ganzen Stich, oben flache graue Ausbreitung mit saftigem Glanz. Keine Gasbildung.

Traubenzuckeragar-Schüttelkultur: Im obersten Zentimeter ist das Agar erheblich stärker graulich getrübt durch die eingetretene Kolonienbildung als weiter unten. Gasbildung trat nicht ein, dagegen wurde an der Oberfläche eine graue, glänzende, glatte Auflagerung gebildet.

Agarstrich b. 30°. Grauliche, glänzende, am Rande schwach lappige Auflagerung; das Kondenswasser ist mit grauer, schleimiger Bakterienmasse erfüllt. Das Wachstum bei 37° entspricht dem bei 30° vollkommen.

Bouillonkultur: Zarte oberflächliche Decke, stark getrübbte Flüssigkeit, reichlich grauer, schleimiger Bodensatz.

Kartoffelkultur: Anfänglich mehlig bestäubte, hübsch manganrote, ca. $\frac{1}{2}$ mm dicke, unregelmäßig begrenzte Auflagerung, die bald saftig glänzend wird und die Kartoffel in der Umgebung auch manganrot verfärbt.

Milch wird nicht verändert, höchstens wird die Rahmschicht durch das Wachstum der Bakterien schwach manganrot gefärbt.

Chemische Leistungen: Harnstoff wird nicht zerlegt, wenigstens konnte nie Ammoniakgeruch nachgewiesen werden. In Bouillon mit Zusatz von Phenolphthalein wird in 7 Tagen so viel Säure gebildet, daß zur Bindung derselben 7—8 ccm $\frac{1}{4}$ Normal-Natronlauge nötig sind. Dargebotenes Nitrat wird teilweise in Nitrit übergeführt, und in 7 Tage alter Bouillonkultur tritt starke Indolreaktion ein.

III.

Die nachfolgend beschriebene Bakterienart steht dem *Bact. aureus* (Frankland) Migula nahe, bildet aber an der Oberfläche von Gelatinestich und Agarstrich keine trockene, runzelige Auflagerung und verflüssigt auf alten Gelatineplatten. Wir trafen die Art auf den Samen resp. Früchten von *Poa trivialis* L., *Lolium italicum* A. Br., *Beta vulgaris* var. *rapa* Dumort f. *alba*, *Beta vulgaris* var. *rapa* Dumort f. *altissima* und *Medicago sativa* L. und zum Teil auf den aus ihnen hervorgegangenen Keimlingen.

Mikroskopisches Aussehen: $\frac{3}{4}$ —2, im Mittel $1\frac{1}{2}$ μ lange und 0,6—0,7 μ breite Stäbchen, die öfter zu zweien sich finden. Im Zellinnern sind keine Differenzierungen wahrzunehmen.

Eigenbewegung: Bei diesen nicht sporenbildenden Stäbchen konnten wir nie Eigenbewegung konstatieren.

Ansprüche an Nährböden und Sauerstoffzutritt: Wachstum auf allen gebräuchlichen Nährböden, wenngleich dasselbe erst nach mehreren Tagen mit Sicherheit erkannt werden kann. Bei Sauerstoffabschluß kann Wachstum nicht stattfinden, wenigstens treten in der hohen Schicht keine Kolonien auf und der Stich verschwindet ca. 1 cm unter der Oberfläche.

Färbbarkeit: Die gewöhnlichen Färbemittel können mit positivem Erfolg verwendet werden, ebenso die Gramsche Methode.

Gelatineplatte: Nach 4 Tagen erscheinen die Oberflächenkolonien als kleine, punktförmige, gelbliche Tröpfchen, kreisrund, scharf abgegrenzt, im Innern schwach körnig, die im Alter von 16 Tagen noch kaum 1 mm Durchmesser aufweisen. Die Tiefenkolonien sind oval bis kreisrund, punktförmig, farblos, im Innern feinkörnig. Auf alten Platten erscheinen die

Kolonieen schwach eingesessen, und die mit einer Spur Bakterien geimpfte Gelatine bei 30° war nach 17 Tagen trotz Einstellen in kaltes Wasser halb flüssig. Die Art verflüssigt also die Gelatine langsam.

Gelatinestich: Spärliches Wachstum im Stich ca. 1 cm tief hinab, die oberflächliche Ausbreitung ist klein, graulich glänzend, scharfrandig.

Agarplatten: Nach 4 Tagen sind die Oberflächenkolonieen als kreisrunde, graugelbe Auflagerungen von ca. 2 mm Durchmesser zu sehen, die in der Folge wachsen, körnig werden und sich schwach goldgelb färben. Die Tiefenkolonieen sind oval bis wetzsteinförmig, scharf abgegrenzt, meist grobkörnig.

Traubenzuckeragarstich: Spärliches Wachstum nur im obersten halben Zentimeter des Stiches; die oberflächliche Ausbreitung ist gelblichgrau, glänzend. Gas wurde nicht gebildet.

Agarstrich bei 30°. Gelblichgraue, glänzende Auflagerung von wenig charakteristischem Aussehen. Bei 37° tritt kein Wachstum ein.

Bouillonkultur: Bei derber, grauer, oberflächlicher Haut eine klar gebliebene Flüssigkeit und grauer flockiger Bodensatz.

Kartoffelkultur: Zitronengelber, saftig glänzender, sich unregelmäßig ausbreitender Belag von ca. $\frac{1}{4}$ mm Dicke.

Milch wurde am dritten Tage nach dem Impfen durch die Produktion von Lab feinflockig geronnen und nachträglich peptonisiert.

Chemische Leistungen: Harnstoff wird nicht unter Bildung von Ammoniak zersetzt, Säure wird keine produziert, wohl aber reichlich Indol in Bouillon. Nitrat wird nicht in Nitrit übergeführt.

IV.

Auf den Früchten von *Beta vulgaris* var. *rapa* Dumort f. *alba*, *Beta vulgaris* var. *rapa* Dumort f. *altissima*, *Trifolium repens* L. und *Daucus carota* L. sowie zum Teil auch auf den aus ihnen gezogenen Keimlingen trafen wir eine Bakterien-species, die wir im folgenden kurz charakterisieren wollen.

Mikroskopisches Aussehen: $\frac{3}{4}$ — $2\frac{1}{2}$, im Mittel $1\frac{1}{2}$ μ lange und 0,6—0,7 μ breite, nicht sporenbildende Stäbchen. Die Bakterien sind meist schwach gekrümmt und zu zweien oder mehreren in kurzen Ketten.

Eigenbewegung konnte nicht konstatiert werden.

Färbbarkeit: Leicht färbbar mit den gewöhnlich gebräuchlichen Färbemitteln und nach Gram.

Ansprüche an Nährböden und an Sauerstoffzutritt: Auf den gewöhnlichen Nährböden tritt überall Wachstum ein, wenngleich sehr langsam. Bei völligem Sauerstoffabschluß findet keine Entwicklung statt, dagegen bei mangelhaftem Zutritt im Stich bis ca. in die halbe Stichtiefe.

Gelatineplatte: Nach 7 Tagen sind die Oberflächenkolonieen als mehr oder weniger kreisrunde, manganrote körnige Auflagerungen sichtbar. An der Peripherie sind nicht selten Ecken- und Lappenbildung andeutungsweise vorhanden, sind aber nicht

deutlich wahrzunehmen. Die Oberflächenkolonien sind stark schleimig bis fadenziehend. Die Tiefenkolonien sind kreisrund bis oval und wetzsteinförmig, manganrot, körnig, schleimig, so daß leicht die ganze Kolonie an der eingeführten Platinnadel hängen bleibt. Die Gelatine wird weder erweicht noch verflüssigt, indem die zu 30° gestellte Gelatinekultur in kaltem Wasser stets wieder vollkommen erstarrt.

Gelatinestich: Rötliches Bakterienwachstum bis ungefähr in die halbe Stichtiefe, die oberflächliche Ausbreitung stellt einen hübsch manganroten, glänzenden Belag dar.

Agarplatte: Nach 3 Tagen sind die Oberflächenkolonien als glänzende, kreisrunde, manganrote Auflagerungen von 1—2 mm Durchmesser wahrzunehmen, die keine Differenzierungen erkennen lassen, doch stark schleimig sind. Die Tiefenkolonien erscheinen als ovale bis wetzsteinförmige, scharf abgegrenzte, manganrote Bakterienmassen.

Agarstrich bei 30°. Glänzende, manganrote, schleimige Auflagerung mit schwach gelapptem Rande, die bei 37° sich nicht bildet.

Traubenzuckeragarstich: Wachstum nur in der oberen Hälfte des Stiches mit manganroter, schleimiger, scharf abgegrenzter, kreisrunder, oberflächlicher Ausbreitung.

Traubenzuckeragar-Schüttelkultur. Im Innern des Agarpfropfens findet weder Gasbildung noch Bakterienwachstum statt.

Bouillonkultur: Derbe, graue, oberflächliche Decke, klare Flüssigkeit nebst flockigem, rötlichem Bodensatz.

Kartoffelkultur: Ungefähr $\frac{1}{2}$ mm mächtige, orange- bis ziegelrote, saftig glänzende Auflagerung, welche die Kartoffel schmutzig verfärbt. Im Innern der Auflagerung bilden sich im vorgerückteren Alter glänzend ziegelrot gefärbte Höckerchen.

Milch wird nach einer Einwirkungszeit von 16 Tagen fein flockig geronnen und allmählich sehr langsam peptonisiert.

Chemische Leistungen: Harnstoff wird nicht zersetzt, wenigstens konnte keine Abspaltung von Ammoniak nachgewiesen werden, ebenso wird keine Säure gebildet und Nitrat nicht in Nitrit übergeführt, dagegen findet starke Indolproduktion statt.

V.

Die letzte nicht identifizierbare und bei den vorliegenden Untersuchungen auf Samen, Früchten und Keimlingen öfter gefundene Bakterienart trafen wir auf Saatmaterial von *Dactylis glomerata* L., *Triticum Spelta* L., *Beta vulgaris* var. *rapa* Dumort. f. *altissima* und auf *Medicago sativa* L., sowie teilweise auf den hieraus gezogenen Keimpflanzen.

Mikroskopisches Aussehen: 1—1,5 μ l und 0,5—0,6 μ breite Stäbchen, meist einzeln, selten zu zweien, ohne Differenzierung im Innern. Nichtsporenbildner.

Eigenbewegung: Die Großzahl der Bakterien ist unbeweglich, einige aber bewegen sich rasch wirbelnd um die Querachse durch das Gesichtsfeld.

Färbbarkeit: Nach Gram nicht färbbar, aber die gewöhnlich verwendeten Farbstoffe werden gut aufgenommen.

Ansprüche an Nährböden und Sauerstoffzutritt. Auf allen gebräuchlichen Nährböden wachsend bei genügendem Zutritt von Sauerstoff; sobald derselbe aber mangelt, ist das Gedeihen nur kümmerlich.

Gelatineplatte: Nach einigen Tagen sind die Oberflächenkolonien auf dicht besetzten Platten als kreisrunde, am Rande sehr schwach zackig gelappte Auflagerungen von ca. 1 mm Durchmesser sichtbar, die im auffallenden Licht graugelb glänzen, im durchfallenden dagegen hübsch bläulich schillern. Im Innern sind die Kolonien feinkörnig. Ist die Platte aber nicht dicht besetzt, so ist das Bild der Oberflächenkolonien ein wesentlich anderes. An den gut ausgebildeten Kolonien sind deutlich eine zentrale feinkörnige und eine feingeaderte, groblappige, periphere Partie zu unterscheiden. Erstere ist im auffallenden Licht gelblichgrau, im durchfallenden dagegen graublau, letztere dagegen grau resp. tief himmelblau. Diese mit großen stumpfen, zartgeaderten Lappen versehenen Oberflächenkolonien bieten einen hübschen Anblick und sind in der Zahl weit vorherrschend. Daneben kommen auch noch beinahe kreisrunde, am Rande feingezähnte Kolonien vor, die mit radial angeordneten Adern versehen sind. Die Tiefenkolonien sind oval bis wetzsteinförmig, gelblich und stark körnig. Die Gelatine wird weder verflüssigt noch erweicht.

Gelatinestich: Spärliches Bakterienwachstum im ganzen Stich; die oberflächliche Ausbreitung ist gelblichgrau, glänzend, schwach gelappt.

Agarplatten: Die Oberflächenkolonien lassen deutlich 2 Zonen unterscheiden, eine innere kreisrunde, gelbliche, grobkörnige und eine schmale durchsichtige, äußere mit meist zart gelapptem Rande. Die Tiefenkolonien sind oval bis wetzsteinförmig, ganzrandig, stark körnig.

Traubenzuckeragarstich: Spärliches Wachstum im Stich, starke oberflächliche, graulich glänzende Ausbreitung.

Traubenzuckeragar-Schüttelkultur: Kein Gas und keine Kolonien im Innern des Agarpfropfens.

Agarstrich bei 30°. Gelblichgraue, saftig glänzende, ganzrandige Auflagerung, die sich bei 37° nicht bildet.

Bouillonkultur: Zarte oberflächliche Decke, stark getrübe Flüssigkeit und starker, nur schwer zerteilbarer grauer Bodensatz.

Kartoffelkultur: Saftig glänzende, orangegelbe, ca. 1 mm mächtige Auflagerung auf der Kartoffel, wodurch dieselbe schmutzig verfärbt wird.

Milch wird nicht verändert.

Chemische Leistungen: Geringe Mengen Harnstoff werden unter Abspaltung von Ammoniak zersetzt, auch kleine Quantitäten Säure und Indol gebildet, sowie kleine Mengen von Nitrat in Nitrit übergeführt und auch letzteres zersetzt.

Das Ergebnis der mitgeteilten Untersuchungen können wir unter Berücksichtigung der vorausgeschickten Erwägungen in folgende Schlußsätze zusammenfassen:

1) Grüne, gesunde Pflanzenteile einerseits und trockene, gesunde Früchte und Samen andererseits beherbergen in der Regel eine durchaus ähnliche, eigentümliche Bakterienflora, die in Rücksicht auf Zahl und Art nicht auf zufällige Verunreinigung der betreffenden Materialien zurückgeführt werden kann.

2) Dieselbe Bakterienflora läßt sich auf Keimpflänzchen feststellen, welche, vor Verunreinigung geschützt, aus gesunden Früchten bzw. Samen in sterilem Sandkeimbeet erzogen worden sind, und zwar spricht der Vergleich der Bakterienzahlen zwischen Same einerseits und Keimpflanze andererseits für eine starke Bakterienvermehrung auf der letzteren.

3) In diesem direkten Nachweis einer lebhaften Bakterienvermehrung auf der jugendlichen Pflanze ist eine zwanglose Erklärung für den hohen Keimgehalt der ausgewachsenen Pflanze sowie der Früchte und Samen zu erblicken. Den betreffenden Tatsachen liegt ein und dieselbe Ursache zu Grunde, nämlich die Vermehrung bestimmter Bakterien auf gesunden Pflanzenteilen.

4) Die auf Samen und grünem Pflanzenmaterial anzutreffenden Bakterien haften mittels Bakterien Schleim an ihrer Unterlage. Diese Schleimbildung ermöglicht erst das Vorkommen nicht sporogener Bakterienarten an Materialien, die oft nur karge Nährstoffmengen bieten und allen Witterungsextremen ausgesetzt sind. Die Schleimschicht bietet einesteils Schutz und hindert doch die Ausbreitung bei günstigen Bedingungen nicht, da sie in Wasser mehr oder weniger leicht löslich ist.

5) Läßt man die Samen in Erde auskeimen, so gehen von dieser nur höchst vereinzelt Bakterien auf die Keimpflanzen über (*Bac. Megatherium* de Bary), dagegen vermögen die auf dem Saatmaterial und den Keimlingen sich findenden Bakterien in größter Zahl in das Keimbeet auszuschwärmen und die schon vorhandene Flora von Mikroorganismen teilweise zu verdrängen.

6) In den von den Keimpflanzen von *Triticum Spelta* L. aktiv ausgeschiedenen Wassertröpfchen findet sich trotz der Armut an Nährstoffen eine sehr zahlreiche, artenarme Bakterienflora, deren Zusammensetzung wiederum jener auf Samen und Pflanzen überhaupt gefundenen entspricht.

7) Als charakteristisches Element der fraglichen Bakterienflora ist in erster Linie *Bacterium herbi-cola aureum* Düggeli (syn.: *Bacillus mesentericus aureus* Winkler), in zweiter Linie *Bacterium fluores-cens* L. et N. zu nennen.

Es sei mir gestattet, an dieser Stelle meinem verehrten Chef, Herrn Prof. Dr. R. Burri, für die mir bei vorliegender Arbeit reichlich zu teil gewordene Unterstützung den wärmsten Dank auszusprechen.

Zürich, im Mai 1904.

Nachdruck verboten.

Ueber eine bisher unbekannte Art der Kernobstfäule, verursacht durch *Fusarium putrefaciens* nov. spec.¹⁾.

Von Dr. A. Osterwalder,

Assistent an der Schweiz. Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädenswil (Abteilung für Pflanzenphysiologie und Pflanzenpathologie).

Mit 2 Tafeln.

Die Fäulnis des Kernobstes ist schon wiederholt zum Gegenstand eingehender Untersuchungen gemacht worden; wir erinnern hier nur an die Arbeiten von Davaine²⁾, Brefeld³⁾, Wehmer⁴⁾ und Zschokke⁵⁾. Neben allgemeineren Fragen über Disposition der Früchte für Fäulnis, Ursachen der Haltbarkeit der Früchte etc. haben die genannten Forscher auch die Systematik der Fäulnispilze mehr oder weniger einläßlich studiert, indem sie die von ihnen beobachteten Pilze, die Obstfäule zu erzeugen vermögen, nennen und auch Mitteilungen über die Häufigkeit ihres Auftretens machen. Beim vergleichenden Studium der citierten Abhandlungen, speziell desjenigen Teiles, der über die Systematik der Fäulnispilze handelt, begegnen wir nun folgenden Widersprüchen, die deutlich genug zeigen, wie notwendig weitere Beobachtungen sind, um ein endgültiges Urteil über das Auftreten der Fäulnispilze und deren Verbreitung fällen zu können.

Nach Davaine zählen *Penicillium glaucum* Lnk. und *Mucor Mucedo* zu den häufigsten Fäulnispilzen; auch Wehmer hält *Penicillium glaucum* für den meistverbreiteten Fäulnis-pilz; daneben sollen noch *Mucor piriformis* Fischer und ganz selten *Mucor stolonifer* Ehrenberg auf Äpfeln und Birnen vorkommen. Da wohl angenommen werden darf, daß *Mucor*

1) Siehe auch: Mitteilungen der Thrg. Naturforscher-Gesellschaft. 1894.

2) Davaine, Recherches sur la pourriture des fruits et des autres parties des végétaux vivants. (Compt. rend. T. CXIII. 1866.)

3) Brefeld, Ueber die Fäulnis der Früchte. (Bot. Ztg. 1876. p. 281—287.)

4) Wehmer, Beiträge zur Kenntnis einheimischer Pilze II. 1. Untersuchungen über die Fäulnis der Früchte. Jena (G. Fischer) 1895.

5) Zschokke, Ueber den Bau der Haut und die Ursachen der verschiedenen Haltbarkeit unserer Kernobstfrüchte. (Landwirtschaftl. Jahrbuch der Schweiz. Bd. XI. 1897. pp. 154—196.)

Mucedo von Davaine mit dem *Mucor piriformis* Fischer von Wehmer identisch ist, indem zwischen diesen beiden Arten große Aehnlichkeiten bestehen, so lassen sich zwischen den Ansichten der beiden genannten Forscher keine erheblichen Abweichungen konstatieren. Brefeld, der allerdings nur Birne, Mispel und Melone untersuchte, spricht sich in der erwähnten Arbeit dahin aus, daß als die weitaus häufigsten Ursachen der Fäulnis *Mucor stolonifer* und *Botrytis cinerea* Pers. zu betrachten seien; seltener komme *Mucor racemosus* Fresen. hinzu, wogegen *Penicillium glaucum* meist erst sekundär, also nicht als Fäulniserreger auftreten soll. In Uebereinstimmung mit Davaine und Wehmer hält Zschokke ebenfalls *Penicillium glaucum* für den häufigsten Fäulnispilz des Kernobstes; ebenso soll nach diesem Forscher *Mucor piriformis* ziemlich häufig auf Birnen sich finden; auch erklärt Zschokke *Botrytis cinerea* als Fäulnispilz bei Süßäpfeln und nicht allzu gerbstoffreichen Birnen. In Abweichung von sämtlichen Forschern stellt der genannte Autor dagegen fest, daß *Monilia fructigena* Pers. sehr häufig die Fäulnis von Kernobst, namentlich unreifer Früchte verursache, und daß er *Mucor stolonifer* häufig als Fäulniserreger beobachtet habe. Die verschiedenen Ansichten überraschen uns nicht, wenn wir berücksichtigen, wie verschieden die Methoden sind, deren sich die Forscher bei ihren Beobachtungen bedienen. Immerhin glauben wir hier auf Grund eigener Erfahrungen sagen zu dürfen, daß die Zschokkesche Arbeit im systematischen Teil, was Vollständigkeit anbetrifft, die andern überragt. Insbesondere was *Monilia fructigena* anbetrifft verdient in der Abhandlung von Zschokke die vollste Beachtung. Jeden Herbst können wir in unserer Gegend beobachten und zweifelsohne wird dies auch an anderen obstbaureibenden Orten der Fall sein, wie zahlreiche verletzte unreife und reife Birnen und Äpfel, um uns hier nur auf die Kernobstfrüchte zu beschränken, von *Monilia fructigena* befallen werden und infolgedessen in Fäulnis übergehen. Daß Wehmer, der die Fäulnisvorgänge am Lagerobst studierte, *Monilia* nicht erwähnt, ist uns begreiflich. Auch wir haben während des Winters *Monilia*-fäulnis am Lagerobst ganz selten beobachtet. Wir gehen in dieser Hinsicht zwar nicht einig mit Zschokke, indem nach diesem Forscher auch an reifen Früchten während des Lagerns *Monilia* nicht etwa nur ausnahmsweise auftreten soll. Derjenige, der eingehender die Fäulnis des Obstes verfolgt, wird anerkennen müssen, daß dieselbe eigentlich sehr vom Zufall abhängt. Im Laboratorium können wir die Beobachtung machen, daß, wenn wir die Glasschalen, unter denen die Früchte aufbewahrt werden, nicht sorgfältig reinigen, immer wieder dieselben Pilze auftreten. Hat sich z. B. *Mucor stolonifer* einmal eingenistet, so werden wir ohne Sterilisation der Gläser, namentlich bei Birnen, immer wieder diesem Pilze begegnen. Ist einmal eine Frucht für die Fäulnis disponiert, so wird sie eben zuerst von demjenigen Fäulnispilz befallen werden, dessen Sporen zufällig auf die verletzte Stelle gelangen, vorausgesetzt natürlich, daß der betreffende Pilz auf der Frucht ein geeignetes

Nährmedium findet. Wartet im Herbst bei der Lagerung des Obstes nicht peinliche Sorgfalt, so kann es leicht geschehen, daß die „gefäßigen“ Fäulnispilze *Penicillium glaucum* und *Monilia fructigena* durch faule oder angefaulte Früchte eingeschleppt werden und schließlich alles, was für Fäulnis disponiert ist, befallen. Da muß man sich natürlich nicht wundern, wenn *Monilia* auf Lagerobst nicht selten ist. Treffen wir dagegen bei der Lagerung eine sorgfältige Auswahl, indem wir faules und angefaultes Obst ausscheiden, so werden *Monilia* und *Penicillium* während des Winters seltenere Gäste werden. Dafür werden uns Fäulnispilze überraschen, die nicht mehr im Kampf ums Dasein mit *Penicillium* und *Monilia* unterliegen, sondern infolge der Abwesenheit und geringeren Auftretens ihrer gefährlichen Konkurrenten sich freier entfalten können, Pilze, die bis heute noch gar nicht bekannt sind und trotzdem nicht von nebensächlicher Bedeutung sind, indem sie nicht etwa nur ausnahmsweise auftreten. Mehr als bis anhin sollte die Fäulnis des Obstes in freier Natur unterschieden werden von der Fäulnis des Lagerobstes, immer vorausgesetzt, daß ursprünglich nur gesundes Obst in einem möglichst pilzfreien Raum gelagert wird. In diesem Sinne möchten wir deshalb den Beobachtungen Zschokkes in Obstkellern und Lageräumen benachbarter Obstzüchter nicht den Wert beimessen, den der genannte Forscher darin erblickt.

Zu den bis heute noch nicht erwähnten Fäulniserregern gehört unter anderem auch eine *Fusarium*-Species. Die durch dieselbe hervorgerufene Fäulnis haben wir in den letzten Jahren hauptsächlich an dem durch sein hervorragendes Aroma und seinen im harmonischen Verhältnis zueinander stehenden Zucker- und Säuregehalt beliebt gewordenen Danziger Kant-Apfel während seiner Lagerung in einem kühlen, trockenen Zimmer beobachten können. Die nachfolgenden Mitteilungen beziehen sich denn auch hauptsächlich auf die Fäule dieser Obstsorte. Zweifelsohne tritt die *Fusarium*-Fäulnis auch bei andern Obstsorten auf; so konnten wir sie einmal beim „Winter-Zitronenapfel“, „Oberrieder Glanzreinette“, sowie bei einer uns unbekannten Aepfelsorte nachweisen. Die Infektionsversuche mit dem *Fusarium*-Pilz, die wir bei verschiedenen Aepfel- und Birnsorten mit Erfolg ausführten und die wir gegen den Schluß unserer Mitteilung hin besprechen werden, berechtigen uns ebenfalls zu der Annahme, daß die *Fusarium*-Fäule nicht auf wenige Obstsorten beschränkt bleibt. Beim „Danziger Kant“ tritt die erwähnte Erscheinung während der Lagerzeit nicht selten auf. Wenn den genannten Vorzügen des Apfels ein nennenswerter Nachteil gegenübergestellt werden soll, so ist es vielleicht gerade der Umstand, daß diese Frucht durch *Fusarium* leicht in Fäulnis übergeht. Von 25 kg, die uns von Anfang Oktober bis Ende November zur Beobachtung vorlagen, sind während dieser Zeit 10 Aepfel *fusarium*faul geworden, während, merkwürdig genug, keine einzige Frucht von *Penicillium glaucum*, *Monilia fructigena*, *Botrytis cinerea* oder von einem *Mucor* befallen wurde. Sämtliche Aepfel faulten von innen, vom Kernhaus aus,

was für die *Fusarium*-Fäule recht charakteristisch ist (Fig. 1). Entweder ist auf der Schalenseite gar nichts zu bemerken oder kleinere faule Flecken, meist um die Kelchpartie oder den Stiel herum gelegen, stehen mit dem faulen Kernhaus in Verbindung. Ist die Fäulnis noch auf das Kernhaus lokalisiert, so wird uns ein Druck auf den Apfel über den inneren Zustand bald orientieren. Hat die Fäule von innen her die Haut erreicht, so stirbt diese ab. Der Wasserverlust kann deshalb bei dieser Art Fäulnisprozeß kein so erheblicher sein wie bei der *Penicillium*- oder *Mucor*-Fäule, wo die Oberhaut gleich anfangs abgetötet und durchlässig wird. Der fusariumfaule Apfel wird wohl weicher, schrumpft aber nicht sehr ein. Namentlich innerhalb des Kernhauses wird das Fruchtfleisch weicher und saftiger, während zwischen Epidermis und Kernhaus die Frucht mehr trockenfaul wird und an die Konsistenz eines Apfels erinnert, der durch *Monilia fructigena* schwarzfaul geworden ist. Das Fruchtfleisch färbt sich braungelb und wird zunderartig. Der Apfel läßt sich im faulen Zustande brechen, ohne zu einer breiigen Masse zerquetscht zu werden. Fällt zuletzt auch die Epidermis zum Opfer, so verschwindet ihr roter Farbstoff; es tritt eine schokoladenbraune Färbung der Schale ein. In diesem faulen Zustande läßt sich die Epidermis wie bei der gesunden Frucht leicht vom Fruchtfleisch trennen, was von selbst oft eintritt beim Zerbrechen eines fusariumfaulen Danziger Kant-Apfels. Im feuchten Raum, z. B. unter einer mit feuchtem Filtrierpapier ausgeschlagenen Glasglocke breitet sich das *Fusarium* in der Frucht rascher aus und verhält sich in dieser Hinsicht wie die andern Fäulnispilze. Ist die Fäule bis zur Oberhaut vorgeschritten, so wächst der Pilz im feucht gehaltenen Raume zu den zahlreichen Lenticellen bzw. Spaltöffnungen heraus (Fig. 2). Ein Durchdringen oder Abheben der Oberhaut, wie dies z. B. von *Penicillium glaucum* und *Gloeosporium fructigenum* bekannt ist, findet nicht statt. Unterhalb der Lenticellenöffnung bildet der Pilz zunächst eine Art Stroma mit pseudoparenchymatischem Charakter, aus dem das Mycel nach außen wächst und sich auf der Oberfläche des Apfels reichlich entwickelt. Durch das Zusammenwachsen der verschiedenen Oberflächenmycelien wird die faule Frucht schließlich in ein spinnwebartiges steriles Hyphengeflecht von grauer, oft grünlich-gelber oder rötlicher Farbe eingehüllt.

Das faule Fruchtfleisch vom Danziger Kant-Apfel zeigt einen ausgesprochen bitteren Geschmack; dieselbe Wahrnehmung haben wir auch bei andern fusariumfaulen Aepfelsorten machen können, die auf künstlichem Wege mit dem Fäulnispilz infiziert wurden. Bekanntlich sollen auch die durch *Gloeosporium fructigenum* in Fäulnis geratenen Aepfel bitter schmecken, daher ja der Name: Bitterfäule. Zufälligerweise lernten wir im Verlauf unserer Untersuchung noch eine dritte Pilzspecies, *Cephalothecium roseum*, kennen, die ebenfalls Bitterfäule bei Aepfeln verursachen kann. Wir halten infolge dessen die Bezeichnung „Bitterfäule“ für zu allgemein, indem dieselbe nicht mehr als Charakteristikum eines einzelnen Fäulnispilzes gelten kann. Um Mißverständnissen vor-

zubeugen, wird man deshalb in Zukunft gut tun, die Bezeichnung „Bitterfäule“ fallen zu lassen. Die den bitteren Geschmack erzeugenden Stoffe im fusariumfaulen Apfel sind wohl löslich oder im gelösten Zustand vorhanden, denn der aus der Frucht gepreßte Saft schmeckt ebenso bitter wie das faule Fruchtfleisch. Bei den fusariumfaulen Birnen, wenigstens bei denjenigen, die mit Erfolg zu den Infektionsversuchen verwendet wurden (Liegels Butterbirne, Diels Butterbirne, Jaminette) fehlt der Bittergeschmack. Ein Schnitt durch einen fusariumfaulen Apfel zeigt in den meisten Fällen, wie das Samengehäuse mit weißem, grünlich-gelbem oder rotem Luftmycel erfüllt ist, wie dessen Wände oft geradezu mit diesem Mycel ausgepolstert und die einzelnen Apfelkerne davon oft genug umspunnen sind. Mehrmals haben wir an diesem Luftmycel im Samengehäuse auch Sporen angetroffen, doch nie in direktem Zusammenhang mit den Mycelfäden, sondern immer isoliert, was bei der losen Verbindung der Vermehrungsorgane mit deren Träger nicht auffallen muß. Die teils schwach sichelförmig, teils geraden, mehrfach septierten Sporen aus dem Innern des Apfels variieren in der Größe. Wir maßen zweikammerige Sporen von $9,76 \mu$ Länge und $3,66 \mu$ Breite bis sechskammerige von $48,8 \mu$ Länge und $3,66 \mu$ Breite, die lebhaft an die Konidiensporen von *Nectria ditissima*, den Krebspilz, erinnern. Sie sind farblos und in den einzelnen Fächern oder Kammern sehr vakuolig. Da die Sporenbildung im Samengehäuse spärlich ist und am Luftmycel an der Oberfläche gar nicht eintritt, so ist es scheinbar keine leichte Sache, die Fäulnis sofort auf den richtigen Pilz zurückzuführen. Doch läßt in der Regel schon das grünlich-gelbe oder scharlachrote Luftmycel im Innern des Apfels auf *Fusarium* schließen, so daß uns in solchen Fällen eine Kultur des Pilzes zum Zwecke der Sporenbildung und Bestimmung desselben geradezu überflüssig erscheint. Oft dringt der Parasit auch ins Innere der Samintegumente, durchwuchert dieselben und wächst in den Embryosack hinein, um das noch vorhandene Endosperm zu resorbieren und den Keimling zu töten. Nicht immer gehen jedoch mit dem Apfel zugleich auch die Kerne in Fäulnis über. Wir haben gesunde Samen in ganz faulen Früchten gefunden.

Auf der Schnittfläche des faulen Apfels tritt besonders im feuchten Raum üppige Mycelbildung ein, so daß z. B. schon innerhalb 10 Tagen eine $1\frac{1}{2}$ cm hohe dichte zunderartige Hyphenschicht sich bildet, die an der Berührungsfläche des Apfels scharlachrot oder grüngelb sich färben kann, während die nach außen wachsenden Hyphen des Mycelpolsters farblos und sehr plasmareich sind. Die älteren roten und grünlich-gelben Pilzfäden enthalten in ihren Zellen auffallend viel Fettkugeln; sie zeigen „fettige Degeneration“ (Fig. 4). Letztere Erscheinung können wir auch an den Pilzfäden der Luftmycels im Samengehäuse beobachten, wo die Zellen mit ihren perlschnurartig aneinander gereihten Fettkugeln oft eigenartig aussehen. Da die „fettige Degeneration“, die wohl mit dem Alter der Zellen zusammenhängt, auch an anderen Pilzen auftritt, so dürfen wir auf diese Erscheinung bei *Fusarium* keinen großen

systematischen Wert legen. Was die Rotfärbung der Pilzfäden anbetrifft, so tritt dieselbe auch bei anderen Vertretern der Gattung *Fusarium* auf. Aderhold¹⁾ beobachtete dieselbe bei *Fusarium gemmiperda* Aderh., einem Pilz, der die Blütenknospen von Kirschbäumen zu Grunde richtet. Sorauer²⁾ erwähnt sie beim Schneeschimmel, *Fusarium nivalis* Sor. (früher *Lanosa nivalis* Fr.). Nach Aderhold rührt die pfirsichblütenrote Farbe bei *Fusarium gemmiperda* von zart gefärbten öligen Tropfen in den Hyphen her. Der rote Farbstoff ging vom Mycel auch auf das Substrat, auf Gelatine, über. Auffallenderweise verhält sich in dieser Hinsicht unser *Fusarium* anders, indem der rote Farbstoff nicht an Fetttropfen noch an Zellsaft gebunden sein kann; verletzte entzweigesschnittene Zellen roter Fäden bleiben rot, auch verändert sich die rote Farbe bei Pilzfäden, die in kochendes Wasser oder in 96-proz. Alkohol gebracht werden, nicht. Hier ist möglich, daß die Zellhaut rot gefärbt ist. Mehrmals schlug auch die grün-gelbe Farbe von Fäden in kochendem Wasser in Rot um, wohl ein Beweis, daß der grün-gelbe und rote Farbstoff zueinander in naher Beziehung stehen. Die Grüngelb- und Rotfärbung werden im Zusammenhang mit dem Altern der Pilzfäden stehen, indem die gefärbten Zellen meist auch fettige Degeneration zeigen. Auch Aderhold erwähnt in seiner Mitteilung über die Kultur von *Fusarium gemmiperda* auf Gelatine, daß das Mycel anfangs schneeweiß war und erst mit dem Altern die wunderschön pfirsichblütenrote Farbe annahm. Noch einiger weiterer Eigentümlichkeiten in der Beschaffenheit des Luftmycels auf der Oberfläche des Apfels, auf Schnittflächen oder im Samengehäuse sei hier gedacht, Mehrere bis viele ältere Pilzfäden können sich zu einem Bündel vereinigen und dickere lange Stränge bilden (Fig. 6), wie dies Sorauer auch von *Fusarium nivale* erwähnt. Ferner trafen wir namentlich im Samengehäuse oft Fäden an, dessen Zellen einseitig kolbenförmig angeschwollen waren (Fig. 3); auch Verschlingungen oder Ringbildungen, wie sie Sorauer von *Fusarium nivale* beschreibt und abbildet, treten hie und da auf. Die Hyphen von unserem *Fusarium* sind unregelmäßig septiert und von sehr verschiedener Breite. Bei den dicksten Fäden haben wir 6,1 μ , bei sehr dünnen nur 1,8 μ Breite gemessen. Im Fruchtfleisch, das sie stark durchwuchern, leben sie inter- und intracellulär. Letzteres Vorkommen ist allerdings nicht immer deutlich zu erkennen, denn die Apfelfellen sind arm an festen Bestandteilen, z. B. an Stärkekörnern, mit deren Hilfe man die intracelluläre Lebensweise leichter konstatieren könnte. Bei der *Fusarium*-

1) Aderhold, Ein der Moniliakrankheit ähnlicher Krankheitsfall an einem Sauerkirschbaume. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. XI. 1901. p. 65 u. ff.)

2) Sorauer, Ueber Frostbeschädigungen am Getreide und damit in Verbindung stehende Pilzkrankheiten. (Landwirtschaftliche Jahrbücher. Bd. XXXII. 1903. Heft 1. p. 1 u. ff.)

Fäule der Kartoffeln z. B. soll nach Wehmer¹⁾ die intracelluläre Lebensweise von *Fusarium Solani*, gerade des reichen Stärkegehaltes der Zellen wegen, leicht zu erkennen sein. An mikroskopischen Schnitten der faulen Frucht fallen zahlreiche isolierte Zellen auf, die durch eine Art Mazerationsprozeß sich aus dem Zellverband gelöst haben. Diese Erscheinung ist aber nicht etwa auf Rechnung des Pilzes zu setzen, da sie auch an Schnitten gesunder Früchte wahrzunehmen ist.

Der Vollständigkeit halber sei hier noch auf die Torulahefe aufmerksam gemacht, die oft neben dem *Fusarium* im Samengehäuse lebt. Wie diese Torulahefe ins Samengehäuse des Danziger Kant-Apfels gelangt, ohne durch verletzte Stellen einzudringen, mag vielleicht interessieren. Wir gehen auf diese Frage noch um so lieber ein, als wir damit gleichzeitig auch das Eindringen des Fäulnispilzes erklären können. Der Danziger Kant-Apfel gehört zu jenen Sorten, die eine offene Stempelröhre besitzen, d. h. die 5 Griffel sind nicht vollständig miteinander verwachsen, sondern lassen zwischen sich einen Kanal frei, der die Kelchröhre mit dem Samengehäuse verbindet. Querschnitte durch den zwischen Samengehäuse und Kelch gelegenen Teil des Apfels lassen meist in der Mitte eine feine Oeffnung erkennen (Fig. 31, bei a). Daß eine solche natürliche Oeffnung das Eindringen von Fäulnispilzen begünstigt, ist einleuchtend, übrigens für Danziger Kant nicht neu. Zschokke erwähnt die Erscheinung in seiner zitierten Abhandlung ebenfalls und bezeichnet sie als einen Faktor, der die Widerstandsfähigkeit gegen das Eindringen von Fäulnispilzen herabsetzt. „Als natürliche Eingangsöffnung ins Innere der Frucht, die allerdings mit dem Bau der Epidermis nicht in Zusammenhang steht, benutzen Fäulnispilze häufig die bei manchen Sorten offen bleibende Kelchröhre. (Der Ausdruck „Griffel- oder Stempelröhre“ verdient den Vorzug. A. O.) Die Fäulnis beginnt dann im Kernhaus bezw. seiner nächsten Umgebung und schreitet allseitig nach außen fort. Als Sorten, bei welchen dieser Vorgang sehr häufig zu beobachten ist, sind Goldparmäne, Danziger Kant-Apfel, Welsch Kampanner u. a. zu nennen²⁾.“ Was für Faktoren noch mitwirken müssen, damit eine Infektion stattfinden kann, wissen wir nicht; Infektionsversuche, die negativ ausgefallen sind und später besprochen werden sollen, lassen den Ansteckungsvorgang komplizierter erscheinen, als man gemeinhin anzunehmen geneigt ist.

(Schluß folgt.)

1) Wehmer, Untersuchungen über Kartoffelkrankheiten. Ansteckungsversuche mit *Fusarium Solani*. (Die *Fusarium*-Fäule.) (Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten. Abt. II. 1897. p. 727 u. ff.)

2) Zschokke, l. c., p. 178.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis der Umbelliferen bewohnenden Puccinien.

Von **Franc. Ottavio Semadeni**, Poschiavo-Graubünden.

Mit 5 Figuren.

(Fortsetzung.)

Die erste Kontrolle fand am 19. Juni statt. Das Ergebnis war folgendes:

IV 1 An einer Fieder oberseits ein Uredolager. An einer anderen oberseits und unterseits je 2 Uredolager.

IV 2 Sämtliche Fiedern pilzfrei.

IV 3 An einer Fieder ober- und unterseits je 2 Uredolager.

IV 4 An 3 Fiedern vereinzelte Uredolager.

IV 5 An 4 Fiedern ober- und unterseits Uredolager.

IV 6 An einer Fieder ein Uredolager.

IV 7—IV 9 Pflanzen pilzfrei.

IV 10 Sämtliche Fiedern ober- und unterseits mit zahlreichen Uredolagern versehen.

Am 29. Juni bei einer Durchsicht der Versuchspflanzen veränderte sich das obige Resultat insofern, als daß auch bei IV 2 an einigen Fiedern zerstreute Uredolager aufgetreten waren und bei den übrigen Pflanzen (IV 1, IV 3—IV 6 u. IV 10) die Infektion sich wesentlich vermehrt hatte. Zwar muß bemerkt werden, daß die Infektion der Sämlingspflanzen (IV 1, IV 3—IV 6) immer noch geringer war als diejenige der überwinterten Pflanze in IV 10. Dies läßt sich aber sogleich erklären, wenn man bedenkt, daß obige Sämlinge zur Zeit der Versuchseinrichtung nur junge Blätter trugen, die für eine Infektion von Aecidiosporen lange nicht so empfänglich sein konnten wie die gut entwickelten Fiedern der überwinterten *Pimpinella saxifraga* in IV 10. Teleutosporen konnten erst am 14. August festgestellt werden. Die mikroskopische Untersuchung ergab die Identität derselben mit den zum Typus der *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart. gehörenden Teleutosporen, was also beweist, daß die Aecidien, von denen wir in unserem Versuche ausgegangen sind, wirklich zu obiger *Puccinia* gehören.

Das Ergebnis des Versuches IV ergänzt dasjenige der Versuchsreihe III insofern, als gezeigt wird, daß die *Puccinia*, von *Pimpinella magna* stammend, sich auch auf *Pimpinella saxifraga* v. *nigra*, *P. nigra* und *P. peregrina* entwickeln kann. Außerdem bestätigt es das Resultat der Experimente I und II, nach welchem genannte *Puccinia* andere Umbelliferengattungen nicht befällt. Hier sei bemerkt, daß die Kontrollpflanzen zu den 4 ersten Versuchen stets pilzfrei blieben.

Fassen wir nun die Resultate der 4 ersten Versuche zusammen, so können wir sagen in Bestätigung der Lindrothschen Angaben, daß *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart., von

Pimpinella magna stammend, unter anderem nicht identisch ist mit *Puccinia Chaerophylli* Purt., *Puccinia athamanthina* Sydow und *Puccinia Heraclei* Grev., und daß sie auch auf *Pimpinella saxifraga*, *P. saxifraga* v. *nigra*, *P. nigra* und *P. peregrina* zu leben vermag.

Aus letzterem darf aber nicht der Schluß gezogen werden, daß obiger Pilz identisch sein muß mit einem solchen auf *P. saxifraga* etc., denn es wäre ja möglich, daß die *Puccinia* auf *Pimpinella saxifraga*, *Pimpinella magna* etc. nicht befallen würde, daß wir es also in diesem Falle mit 2 verschiedenen Pilzen zu tun hätten, von denen der eine *Pimpinella magna*, *saxifraga* etc., der andere aber nur *Pimpinella saxifraga* befallen würde. Mit anderen Worten, die Frage der Identität für die auf *Pimpinella*-Arten vorkommenden Puccinien kann nur durch Versuche entschieden werden, in denen mit den sämtlichen Puccinien auf *Pimpinella*-Arten gearbeitet wurde. Da mir aber die betreffenden Pilze leider nicht erhältlich waren, so konnte ich natürlich auf die Frage nicht weiter eingehen, somit auch nicht den zweiten Teil der mir festgesetzten, am Anfange dieses Abschnittes angegebenen Aufgabe lösen. (Siehe Tabelle p. 216.)

2. *Puccinia Chaerophylli* Purt.

Diese *Puccinia* wurde zum ersten Male 1821 durch Purton beschrieben. Die späteren Mykologen vereinigten sie mit *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart., bis Tranzschel¹⁾ sie von der letzteren wieder trennte und mit der Form auf *Anthriscus*-Arten vereinigte. Zu ihr stellte später Lindroth²⁾ die Formen auf *Myrrhis odorata* und auf *Daucus spec.* Nach ihm³⁾ unterscheidet sich *Puccinia Chaerophylli* Purt. von *P. Pimpinellae* (Strauss) Mart. durch die Uredosporen, die je 3 Keimporen besitzen und die mit einer dünnen blassen Membran versehen sind.

Kulturversuche mit der einen oder anderen zu obiger *Puccinia* gehörenden Formen sind bisher keine ausgeführt worden, obwohl dies der einzige Weg gewesen wäre, um genauen Aufschluß zu erhalten über den Kreis ihrer Nährpflanzen. Nachfolgende Experimente sollen nun einen Beitrag liefern zur Lösung dieser Frage.

V. Infektionsversuch mit Uredosporen von *Puccinia Chaerophylli* Purt. von *Anthriscus silvestris* stammend.

Am 12. Juni 1902 fand ich an der Engehalde bei Bern zahlreiche, vom Uredo der *P. Chaerophylli* Purt. befallene *Anthriscus silvestris*. Am 13. Juni leitete ich damit einen Infektionsversuch mit folgenden Pflanzen ein:

-
- 1) In Lindroths „Umbelliferen-Uredineen“. p. 12.
 - 2) l. c. p. 12.
 - 3) l. c. p. 12.

Tabelle zu den Infektionsversuchen I—IV.

Versuchspflanze	Infektionsmaterial und Versuchsnummer			
	I	II	III	IV
	Uredosporen von Pimp. magna	Uredosporen von Pimp. magna	Teleuto- sporen von Pimp. magna	Aecidio- sporen von Pimp. magna
<i>Pimpinella magna</i>		+	+	+
„ <i>saxifraga</i>	— ¹⁾		+	
„ „ <i>v. nigra</i>				+
„ <i>nigra</i>				+
„ <i>peregrina</i>				+
„ <i>anisum</i>	×			
<i>Anthriscus silvestris</i>	(+) ²⁾			—
<i>Chaerophyll. aureum</i>	—	—		
„ <i>aromatic.</i>				—
<i>Myrrhis odorata</i>				—
<i>Athamanta cretensis</i>	—	—		
<i>Heracleum Spondyl.</i>	—	—		
<i>Meum Mutellina</i>	—	—		
„ <i>athamanticum</i>		—		
<i>Bupleurum falcatum</i>	—	—		
<i>Sanicula europaea</i>	—			
<i>Falcaria Rivini</i>	—			
<i>Angelica silvestris</i>	—	—		
<i>Apium graveolens</i>	—			
<i>Conium maculatum</i>	—			
<i>Coriandrum sativum</i>	—			
<i>Peucedanum palustre</i>		—		
<i>Carum Carvi</i>	—			
<i>Astrantia major</i>	—			
<i>Aegopodium Podagraria.</i>				

Erklärung der Zeichen: + = positiver Erfolg; (+) = positiver Erfolg, auf Fremdinfektion zurückzuführen; — = negativer Erfolg; × = alle Versuchspflanzen verwelkt.

- V 1. *Anthriscus silvestris* } im Juni 1902 in der Nähe von Bern aus-
 V 2. „ „ } gegraben und eingetopft.
 V 3. *Chaerophyllum aureum* } vom Berner botanischen Garten stammend.
 V 4. „ „ }
 V 5. *Heracleum Spondylium* } im Berner botanischen Garten kultiviert.
 V 6. *Meum Mutellina* }
 V 7. *Bupleurum falcatum*, aus dem Jura.
 V 8. *Sanicula europaea*, am Belpberg im Juni 1902 ausgegrb. u. eingetopft.
 V 9. *Daucus Carota* } im Berner botanischen Garten kultiviert.
 V 10. *Conium maculatum* }

Schon am 26. Juni wurden die ersten Uredolager hypophyll an Blättern von allen 2 *Anthriscus silvestris* bemerkt, während an den anderen Pflanzen keine Infektion wahrgenommen werden konnte. Am 1. August wurde der Versuch zum zweiten Male kontrolliert, wobei das frühere Ergebnis bestätigt wurde. Zur Teleuto-sporenbildung kam es in diesem Versuche nicht, da *Anthriscus* wegen der Hitze schon in der ersten Hälfte des August zu Grunde ging. Das Resultat des Versuches ist also folgendes:

- 1) In beiden Nummern ganz junge Sämlinge.
 2) 1 Versuchspflanze an 2 Blättern befallen.

Die *Puccinia*, von *Anthriscus silvestris* stammend, scheint von allen in der Versuchsreihe V angewendeten Umbelliferen bloß *Anthriscus silvestris* zu befallen.

Da aber in diesem Versuche *Myrrhis odorata* nicht zur Anwendung gelangen konnte, und da das Resultat einer Bestätigung und Ergänzung überhaupt bedurfte, so wurden im Jahre 1903 nachstehende Versuche eingeleitet.

VI. Infektionsversuch mit Teleutosporen von *Puccinia Chaerophylli* Purt., von *Anthriscus silvestris* stammend.

Teleutosporen von der *Puccinia Chaerophylli* Purt. gesammelt im Herbst 1902 auf *Anthriscus silvestris* wurden am 4. Mai 1903 auf folgende Versuchspflanzen aufgetragen:

- | | |
|---|--|
| VI 1. <i>Anthriscus silvestris</i> | } bei Bern im Herbst 1902 ausgegraben und eingetopft. |
| VI 2. " " | |
| VI 3. " <i>cerefolium</i> v. <i>trichospermum</i> | } Sämlinge gezog. a. Samen der Schweiz. Samenuntersuchungsanstalt in Zürich. |
| VI 4. " " | |
| VI 5. " " | } gezogen 1903 aus Samen von Paris. |
| VI 6. " " | |
| VI 7. <i>Myrrhis odorata</i> | } gezogen 1903 aus Samen von Bonn. |
| VI 8. " " | |
| VI 9. <i>Chaerophyllum aureum</i> , im Herbst 1902 b. Bern ausgegrb. u. eingetopft. | |

Eine am 8. Mai vorgenommene Durchsicht ergab folgendes Resultat:

VI 1 An einem Blatte ober- und unterseits, sowie am Blattstiele zerstreute Pykniden und gelblich verfärbte Stellen. Die übrigen Blätter pilzfrei.

VI 2 An einem Blatte ober- und unterseits, sowie am Blattstiele zerstreute Pykniden. An einem 2. Blatte gelblich verfärbte Stellen. An einem 3. Blatte oberseits Pykniden. Die übrigen Blätter pilzfrei.

VI 3—VI 9 Pflanzen pilzfrei.

Am 22. Mai erfolgte die 2. Kontrollierung, wobei folgendes konstatiert wurde:

VI 1 3 Blätter ober- und unterseits massenhaft mit Pykniden versehen, die übrigen 2 ober- und unterseits zerstreute Pyknidengruppen und gelblich verfärbte Stellen aufweisend. Die meisten Blattstiele ebenfalls mit Pykniden infiziert.

VI 2 Sämtliche Blätter ober- und unterseits, sowie deren Blattstiele mit Pykniden besetzt.

VI 3—VI 6 Pflanzen pilzfrei.

VI 7 Von 3 Blättern eines an einer Fieder 3. Ordnung mit einer Pyknidengruppe und an einer anderen ebenfalls gleicher Ordnung mit einer verfärbten Stelle versehen.

VI 8 Ebenfalls 3 Blätter vorhanden, davon eines an 2 Fiedern 3. Ordnung je eine Pyknidengruppe aufweisend.

VI 9 Pflanze pilzfrei.

Am 26. Mai waren an VI 1 und VI 2 überall Aecidien zu sehen. An VI 7 und VI 8 hatte sich die Infektion nicht vermehrt.

An Stelle der Pykniden und verfärbten Stellen waren nun Aecidien und Pykniden aufgetreten.

Uredosporen konnten an VI 1—VI 2 und an VI 7—VI 8 erst am 23. Juni, Teleutosporen am 14. August bemerkt werden. Letztere ergaben sich bei mikroskopischer Untersuchung als identisch mit den betreffenden Sporenformen der *Puccinia Chaerophylli* Purt. Die übrigen Versuchspflanzen (VI 7 u. VI 9) blieben während dieser Versuchszeit pilzfrei. VI 3—VI 6 und VI 8 wurden, weil ebenfalls pilzfrei, zu späteren Versuchen verwendet. Auffallend ist in diesem Versuche die Tatsache, daß *Anthriscus cerefolium* und dessen Varietät *trichospermum* von der *Puccinia Chaerophylli* Purt., von *Anthriscus silvestris* stammend, resp. von deren Basidiosporen nicht befallen wurden, während auf *Myrrhis odorata* die Infektion einen Erfolg, wenn auch nur einen geringen, erzielte. Sehen wir uns nach Erklärung zu Obigem um. Beim ersten Blicke möchte man annehmen, es handle sich hier um eine Immunität der beiden *Anthriscus*-Arten gegenüber *Puccinia Chaerophylli* auf *A. silvestris*. Diese Annahme fällt aber dahin; denn in Versuchen, die nachfolgend besprochen werden sollen, gelang es, die nämlichen Pflanzen erfolgreich mit Aecidio- und Uredosporen, von *Anthriscus silvestris* stammend, zu infizieren. Es kann sich also im obigen Falle um Immunität der Species nicht handeln. Die Ursache muß anderswo gesucht werden. Es wäre nämlich denkbar, daß jene *Anthriscus*-Arten sich bloß gegenüber den Basidiosporen obiger *Puccinia* immun verhalten hätten; mit anderen Worten, wir stünden dann vor einem in der Entwicklungsgeschichte der Uredineen bis jetzt noch nie beobachteten Falle, vor der ungleichen Infektionstüchtigkeit verschiedener Sporengenerationen eines Pilzes, wie sie Neger für die Erysipheen vermutete. Die Wichtigkeit der Frage aber, sowie die Konsequenzen, welche diese Annahme zur Folge hätte, erlauben mir aber nicht, genannte Erscheinung in diesem Sinne zu deuten, um so mehr als möglicherweise die Tatsache sich noch anders erklären läßt, wie folgt: *Anthriscus cerefolium* und dessen Varietät *trichospermum* waren zur Zeit der Versuchseinrichtung für Basidiosporen der *Puccinia*, von *Anthriscus silvestris* stammend, nicht infektiösfähig, das heißt, ihren Blättern fehlte die zum Eindringen und zur weiteren Entwicklung der Keimschläuche nötige Beschaffenheit, daher das Ausbleiben der Infektion. Diese Erklärung stützt sich auf die Erfahrung, daß im allgemeinen von Basidiosporen nur Pflanzen im jugendlichen Zustande befallen werden und auf die Tatsache, daß die im Versuch VI benutzten Pflanzen (VI 3—VI 6) zur Zeit der Versuchseinrichtung verhältnismäßig schon stark entwickelte Blätter trugen. Aehnlich möchte ich nun auch den schwachen Erfolg auf *Myrrhis odorata* erklärt haben, von der ebenfalls bemerkt sein soll, daß sie in späteren Versuchen stets von der *Puccinia* auf *Anthriscus silvestris* infiziert wurde. Versuchsreihe VI bestätigt vor allem etwas schon bekanntes, nämlich die Angabe, daß *Puccinia Chaerophylli* Purt., von *Anthriscus silvestris* stammend, eine

Auteupuccinia sei, und ferner das Ergebnis des Versuches V, insofern als auch hier diese Puccinia Chaerophyllum aureum nicht befiel. Neu geht aus ihr hervor, daß Myrrhis odorata von der Puccinia infiziert wird.

Die nachfolgenden Versuchsreihen bezwecken, die Stellung der Puccinia Chaerophylli Purt., von Anthriscus silvestris stammend, gegenüber Anthriscus cerefolium und dessen Varietät trichospermum, sowie gegenüber Pimpinella magna zu erklären.

VII. Infektionsversuch mit Aecidiosporen von Puccinia Chaerophylli Purt., von Anthriscus silvestris stammend.

Ein Teil der bei VI 1 und VI 2 gewonnenen Aecidiosporen wurde am 2. Juni 1903 auf folgende Versuchspflanzen aufgetragen:

- | | | |
|---------|------------------------|--|
| VII 1. | Anthriscus silvestris, | diente schon bei vorigem Versuch. |
| VII 2. | " " | } im Herbst 1903 bei Bern ausgegraben und eingetopft. |
| VII 3. | " cerefolium | |
| VII 4. | " " | } diente schon beim vorigen Versuch. |
| VII 5. | " " v. trichospermum | |
| VII 6. | " " | |
| VII 7. | Myrrhis odorata, | " von Genf im Herbst 1902 bezogen. |
| VII 8. | " " | diente schon beim vorigen Versuch. |
| VII 9. | Chaerophyllum aureum, | im Herbst 1902 b. Bern ausgegr. u. eingetopft. |
| VII 10. | Pimpinella magna, | } im Herbst 1902 bei Zollikofen (bei Bern) ausgegraben und eingetopft. |
| | | |

Am 16. Juni erfolgte die erste Kontrollierung der Versuchspflanzen. Das Resultat der Durchsicht ist folgendes:

- VII 1 Sämtliche Blätter gleichmäßig mit Uredo infiziert.
- VII 2 An den älteren Blättern gleichmäßige Uredoinfektion.
- VII 3—VII 6 Pflanzen pilzfrei.
- VII 7 Sämtliche Blätter mit Uredo gleichmäßig infiziert.
- VII 8 Die meisten Blätter zahlreiche Uredolager aufweisend.
- VII 9—VII 10 Pflanzen pilzfrei.

Einige Tage nach obiger Kontrolle konnte nun auch an VII 3 bis VII 6 eine gleichmäßige Uredoinfektion festgestellt werden, während an Chaerophyllum und Pimpinella keine Uredolager bemerkt werden konnten. Letztere blieben auch während der übrigen Versuchsdauer pilzfrei. Die Teleutosporenbildung blieb leider auch in diesem Versuche aus, da Anthriscus und Myrrhis im Laufe des Juli zu Grunde gingen. Der Versuch zeigt also sehr klar, daß in den Entwicklungskreis der Puccinia Chaerophylli Purt., von Anthriscus silvestris stammend, Myrrhis odorata, Anthriscus cerefolium und dessen Varietät trichospermum hineinfallen, daß hingegen Chaerophyllum aureum von diesem auszuschließen ist. Außerdem spricht er dafür, daß Pimpinella magna von genannter Puccinia nicht befallen wird. Das gleiche Ergebnis ergab auch der folgende Versuch.

VIII. Infektionsversuch mit Uredosporen von *Puccinia Chaerophylli* Purt., von *Anthriscus silvestris* stammend.

Mit im Versuch VII an VII 1 und VII 2 gewonnenen Uredosporen wurden am 18. Juni folgende Versuchspflanzen besät:

- | | | |
|---------|--|--|
| VIII 1. | <i>Anthriscus silvestris</i> | } im Juli 1903 bei Bern ausgegraben und eingetopft. |
| VIII 2. | " " | |
| VIII 3. | " <i>cerefolium</i> , gezogen 1903 aus Samen von Bonn. | |
| VIII 4. | " " <i>v. trichospermum</i> , | { gez. 1903 a. Samen d. Schw. Samenuntersuchungsanstalt in Zürich. |
| VIII 5. | <i>Myrrhis odorata</i> | |
| VIII 6. | " " | } im Herbst 1903 aus Genf bezogen. |
| VIII 7. | <i>Chaerophyllum aureum</i> , im Herbst 1902 b. Bern ausgegr. u. eingetopft. | |
| VIII 8. | <i>Pimpinella magna</i> , | } im Herbst 1902 bei Zollikofen bei Bern ausgegraben und eingetopft. |
| VIII 9. | <i>Athamantha cretensis</i> , im Berner botanischen Garten kultiviert. | |

Am 2. Juli waren an sämtlichen Kulturpflanzen, mit Ausnahme von VIII 7, VIII 8 und VIII 9, zahlreiche Uredolager bemerkbar, deren Zahl sich später noch wesentlich vermehrte. Auf VIII 7 und VIII 8 hatte die Infektion keinen Einfluß gehabt. Zu einer Teleutosporenbildung kam es auch hier aus dem gleichen Grunde wie bei VII nicht. Versuchsreihe VIII beweist im Verein mit den vorigen V, VI und VII, daß der Pilz auf *Anthriscus silvestris*, abgesehen von dieser Pflanze, noch *Anthriscus cerefolium*, dessen Varietät *trichospermum* und *Myrrhis odorata* befällt, hingegen nicht auf *Chaerophyllum aureum* und *Pimpinella magna* übergeht. Fernerscheint aus ihr hervorzugehen, daß er auch nicht auf *Athamantha cretensis* zu leben vermag.

Aus den Ergebnissen der Versuche V—VIII geht nun folgendes hervor:

1) *Puccinia Chaerophylli* Purt., von *Anthriscus silvestris* stammend, ist nicht identisch mit der *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart. und scheint es auch nicht zu sein mit der *Puccinia athamanthina* Sydow und mit der *Puccinia Heraklei* Grew. 2) Sie befällt *Chaerophyllum aureum* nicht, hingegen wohl *Anthriscus cerefolium*, dessen Varietät *trichospermum* und *Myrrhis odorata*.

Um zu erfahren, wie sich die *Puccinia* auf *Chaerophyllum aureum* gegenüber *Anthriscus*-Arten und *Myrrhis odorata* verhalte, wurden die jetzt zu besprechenden Infektionsversuche ausgeführt.

IX. Infektionsversuch mit Uredosporen von *Puccinia Chaerophylli* Purt., von *Chaerophyllum aureum* stammend.

Am 25. Juni 1902 sammelte ich auf *Chaerophyllum aureum* bei Muri (Kt. Bern) Uredosporen der *Puccinia Chaero-*

phylli Purt. Mit diesen infizierte ich am 26. Juni folgende Versuchspflanzen:

- | | |
|------------------------------------|---|
| IX 1. <i>Chaerophyllum aureum</i> | } aus der Nähe des Berner botanischen Gartens stammend. |
| IX 2. " " | |
| IX 3. <i>Anthriscus silvestris</i> | |
| IX 4. " " | |
| IX 5. <i>Pimpinella saxifraga</i> | } gezogen 1902 aus Samen v. Berner bot. Garten. |
| IX 6. " " | |
| IX 7. <i>Meum Mutellina</i> | } im Berner botanischen Garten kultiviert. |
| IX 8. <i>Heracleum Spondylicum</i> | |

Am 7. Juli zeigte *Chaerophyllum aureum* (IX 1) auf der unteren Seite zahlreicher Blätter junge Uredolager. Das andere Exemplar (IX 2) war schon am 5. Tage nach eingeleitetem Versuche verwelkt und mußte somit aus der Versuchsreihe ausgeschlossen werden. Die übrigen Pflanzen stellten sich als pilzfrei heraus. Am 15. Juli war an IX 1 eine gleichmäßige Infektion zu erblicken. An IX 3—IX 8 hatte sich das Resultat vom 7. Juli nicht verändert. Das gleiche Ergebnis erzielte ich bei einer zweiten Kontrollierung am 2. August. Teleutosporen konnten in dieser Versuchsreihe nicht beobachtet werden, da das Infektionsmaterial von IX 1 vollständig für den nachher zu besprechenden Versuch aufgebraucht wurde. Auf das negative Ergebnis bei *Pimpinella saxifraga* dürfen wir kein Gewicht legen, da, wie schon früher bei I angegeben, wir nicht wissen, ob wir es mit Immunität oder mit Ausbleiben der Infektion infolge mangelhaft entwickelter Blätter zu tun haben.

Sieht man also von *Pimpinella* ab, so läßt sich das Resultat des Versuches IX folgendermaßen geben: *Puccinia Chaerophylli* Purt., von *Chaerophyllum aureum* stammend, scheint *Anthriscus silvestris*, *Heracleum Spondylicum* und *Meum Mutellina* nicht zu befallen.

Mit diesem Resultat stimmt dasjenige des folgenden Versuches überein.

X. Infektionsversuch mit Uredosporen von *Puccinia Chaerophylli* Purt., von *Chaerophyllum aureum* stammend.

Die in Versuch IX bei IX 1 gewonnenen Uredosporen wurden am 18. Juli 1902 auf nachstehende Umbelliferen aufgetragen:

- | | |
|-----------------------------------|---|
| X 1. <i>Chaerophyllum aureum</i> | } von der Nähe Berns stammend. |
| X 2. " " | |
| X 3. " " | |
| X 4. " " | |
| X 5. " " | |
| X 6. " " | |
| X 7. <i>Anthriscus silvestris</i> | } im Juli 1902 bei Bern ausgegraben und eingetopft. |
| X 8. <i>Pimpinella magna</i> | |
| X 9. " " | |

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Versuche mit schweizerischen Weidenmelampsoren.

[Aus dem botanischen Institut Bern.]

Von **Otto Schneider**, Hofwil bei Bern.

(Vorläufige Mitteilung.)

Dank der zahlreichen experimentell-morphologischen Untersuchungen Klebahns haben unsere Kenntnisse über Weidenrostpilze in den letzten Jahren bedeutende Fortschritte gemacht. Eine große Reihe von *Salixmelampsoren* Norddeutschlands wurden durch den genannten Forscher entwicklungsgeschichtlich klargelegt.

Auf Anregung des Herrn Prof. Dr. Ed. Fischer entschloß ich mich letztes Jahr, an Hand von Kulturversuchen die schweizerischen Weidenmelampsoren zu studieren.

Es handelte sich in erster Linie darum, festzustellen, ob in der Gegend von Bern vielleicht noch andere, als die von Klebahn für Norddeutschland beschriebenen Melampsoren¹⁾ vorkommen. Dies bestätigte sich denn auch, indem 3 neue biologische Arten festgestellt werden konnten, die sich in ihrem Verhalten von den bisher beschriebenen Formen deutlich unterscheiden.

1. *Melampsora Evonymi-incanae*.

Im November 1903 sammelte ich auf dem Aaredamm im Selhofenmoos bei Bern Teleutosporen einer *Melampsora* auf *Salix incana* Schr. Nach Ueberwinterung derselben im Freien legte ich das vorher aufgeweichte Material am 29. April 1904 auf junge Blätter von *Evonymus europaea*, *Larix europaea*, *Ribes Grossularia*, *R. aureum*, *R. sanguineum*, *Allium ursinum* und *Platanthera bifolia*. 3 Wochen später trugen die beiden Exemplare von *Evonymus* auf Blattunterseite und diesjährigen Trieben kräftige Caeomalager. Bei der Rückinfektion mit den so erhaltenen Caeomasporen wurde *Salix incana* sehr stark infiziert, während *S. nigricans*, *Caprea*, *cinerea*, *aurita*, *retusa*, *herbacea*, *fragilis*, *viminalis* und *grandifolia* ganz pilzfrei blieben.

Demnach bildet das Caeoma *Evonymi*, welches in Norddeutschland einer *Melampsora* auf *Salix cinerea*, *aurita* und *Caprea* angehört²⁾, seine Uredo- und Teleutosporen in der Umgebung von Bern auf *Salix incana*.

Dieses Ergebnis wurde durch Versuche bestätigt, die ich gleichzeitig mit aus dem Freien stammendem *Evonymus*-Caeoma vornehmen konnte. Anfangs Juni fanden sich in der Elfenau bei Bern noch einige *Evonymus* infiziert. Wiederholte Aussaatversuche mit diesem Material und dem daraus hervorgegangenen Uredo ergaben sehr starke Infektion von *Salix incana* und

1) Klebahn, Die wirtswechselnden Rostpilze. 1904.

2) Klebahn, Kulturversuche mit Rostpilzen. VIII. Bericht.

spärliche Uredolager auf *S. Caprea*. *Salix cinerea*, *aurita*, *nigricans*, *purpurea*, *repens* und *reticulata* blieben völlig pilzfrei. *Salix incana* wurde ungemein kräftig befallen; ich zählte bis 280 isolierte Uredolager auf der Unterseite mittelgroßer Blätter. Morphologisch stimmt der Pilz, dem ich nach Klebahn's Benennungsweise den Namen *Melampsora Evonymi-incanae* gebe, mit *M. Larici-epitea* Kleb¹⁾ überein; geringe Unterschiede in der Dicke der Membran bei Uredosporen und Paraphysenscheideln sind nicht ausnahmslos konstant.

2. *Melampsora Larici-nigricantis*.

Das Teleutosporenmaterial auf *Salix nigricans* Sm., welches als Ausgangspunkt für die Untersuchung dieser Weidenmelampsora diente, stammte ebenfalls aus dem Selhofenmoos und wurde am 22. April 1904 auf *Larix europaea*, *Evonymus europaea*, *Ribes Grossularia*, *R. aureum* und *R. sanguineum* aufgelegt. Nach 12 Tagen fanden sich auf *Larix* Pykniden vor, und schon bald nachher bewiesen äußerst zahlreiche Caeomalager die gelungene Infektion. *Ribes* und *Evonymus* blieben dauernd pilzfrei.

Durch Rückinfektion des so erhaltenen *Larix-Caeomas* und mit Hilfe mehrerer Uredoversuchsreihen konnte der Kreis der Nährpflanzen im Laufe dieses Sommers festgestellt werden. *Salix nigricans* wurde, wie vorausszusehen, in allen Versuchen sehr stark infiziert. Eine ihr ähnliche, unter der Bezeichnung *Salix glabra* erhaltene Weidenart, und *Salix Hegetschweileri* zeigten gleichfalls zahlreiche Uredolager. Nur schwach infiziert wurden *Salix daphnoides*, *arbuscula*, *incana*, *cinerea*, *fragilis*, *acutifolia*, *grandifolia*, *herbacea* und *reticulata*. Ganz pilzfrei blieben *Salix aurita*, *repens*, *elegantissima*, *pentandra*, *purpurea*, *alba*, *viminalis*, *amygdalina*, *Caprea*, *Jacquini* und *retusa*.

Dieser Pilz, nennen wir ihn *Melampsora Larici-nigricantis*, gehört, wie *M. Evonymi-incanae* dem *Epitea*-Typus an, nur bildet er seine Teleutosporenlager auf beiden Blattseiten. Biologisch unterscheidet er sich deutlich von Klebahn's verwandten Formen; dies noch um so mehr, als *Melampsora Larici-epitea* Kleb. den Wirt von *M. Larici-nigricantis*, *Salix nigricans* überhaupt nicht zu infizieren vermag²⁾.

3. *Melampsora Larici-purpureae*.

Eine dritte neue Form vom *Epitea*-Typus lieferten Versuche mit Teleutosporenmaterial auf *Salix purpurea* L., welches vom gleichen Standort, wie die beiden vorigen Arten, herrührte. Diese *Melampsora* rief auf *Larix europaea* 7 Tage nach der Infektion Pykniden und 2 Wochen später kräftige Caeomalager

1) Klebahn, Kulturversuche. VII. Bericht.

2) Klebahn, Die wirtswechselnden Rostpilze. p. 422.

hervor. *Evonymus europaea*, *Ribes Grossularia*, *R. aureum* und *R. sanguineum* blieben während der ganzen Versuchsdauer pilzfrei. Schon 8 Tage nach der Rückinfektion mit dem *Caeoma* trug *Salix purpurea* *Uredo*, der dann Material zu weiteren Versuchen bot.

Es ergab sich dabei folgendes: *Salix purpurea* wurde auf Unter- und Oberseite der Blätter stets sehr stark infiziert, *Salix daphnoides* und *S. aurita* mittelstark, *Salix cinerea*, *nigricans*, *incana*, *Caprea* und *grandifolia* schwach, während *Salix viminalis*, *Hegetschweileri*, *pentandra*, *alba*, *repens*, *amygdalina*, *fragilis*, *elegantissima*, *reticulata* und *herbacea* pilzfrei blieben.

Diesem Pilze, den ich vorläufig *Melampsora Larici-purpureae* benenne, am nächsten steht *M. Larici-Daphnoidis* Kleb., doch ist der letzteren Verhalten zur *Salix purpurea* noch unbekannt¹⁾. Biologische Verschiedenheiten erlauben ein Zusammenziehen der beiden Formen wohl kaum.

Bern, August 1904.

1) Klebahn, Kulturversuche. XIII. Bericht.

Inhalt.

Originalmitteilungen.

- Chrassac, T.**, Zur Kenntnis des Hefewachstums in mineralischer Nährlösung, p. 144.
- Düggeli, Max**, Die Bakterienflora gesunder Samen und daraus gezogener Keimpflänzchen. (Schluß), p. 198.
- Harrison, F. C.**, A bacterial disease of cauliflower (*Brassica oleracea*) and allied plants. (Conclusion), p. 185.
- Henneberg, W.**, Abnorme Zellformen von Brennerhefen, p. 150.
- Iwanoff, K. S.**, Ueber die Wirkung einiger Metallsalze und einatomiger Alkohole auf die Entwicklung von Schimmelpilzen, p. 139.
- Jensen, Orla**, Studien über die flüchtigen Fettsäuren im Käse nebst Bei-

trägen zur Biologie der Käsefermente, p. 161.

Milburn, Thomas, Ueber Aenderungen der Farben bei Pilzen und Bakterien, p. 129.

Osterwalder, A., Ueber eine bisher unbekannte Art der Kernobstfäule, verursacht durch *Fusarium putrefaciens* nov. spec., p. 207.

Saito, K., Eine neue Art der „Chinesischen Hefe“, p. 153.

Schneider, Otto, Versuche mit schweizerischen Weidenmelampsoren, p. 222.

Semadeni, Franc. Ottavio, Beiträge zur Kenntnis der Umbelliferen bewohnenden Puccinien. (Forts.), p. 214.

Störmer, K., Ueber die Wasserröste des Flachses. (Forts.), p. 171.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof.
Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr.
Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3^{1.}

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XIII. Band.

Jena, den 10. Oktober 1904.

No. 8.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hiersu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

Nachdruck verboten.

Gesellschaft amerikanischer Bakteriologen.

Die fünfte Jahresversammlung der Gesellschaft amerikanischer Bakteriologen wurde im hygienischen Laboratorium der Universität von Pennsylvania zu Philadelphia am 29. und 30. Dezember 1903 abgehalten. Es sprachen:

Sawin, L. R., Ueber eine neue Art und Weise, um Gärungsrohren aufzubewahren.

In bakteriologischen Laboratorien, wo Gärungsproben gemacht werden, benutzt man gewöhnlich Smithsche, mit einem Fuße versehene Röhren. Gegen Röhren dieser Konstruktion lassen sich

Zweite Abt. Bd. XIII.

15

jedoch mehrere Einwürfe erheben: 1) Sie stehen nicht sicher und sind leicht zerbrechlich. 2) Sie nehmen einen bedeutenden Raum im Brutschranke ein, was bei dem Gebrauche einer großen Anzahl Röhren sehr in die Wagschale fällt. 3) Es kostet recht viel Zeit, jede einzelne Röhre zu numerieren und sie nach der Inkubationsperiode wieder herauszufinden. Und schließlich sind sie teurer als diejenigen ohne Fuß. Röhren mit Fuß kosten 30 Dollar pro Gros, während man fußlose für 21 Dollar 60 Cent erhält.

Diese Schwierigkeiten sind ganz ernsthafter Natur für Laboratorien zur bakteriologischen Untersuchung von Wasser, wo die Probe auf das *Bact. coli* angewendet wird. Bei diesem Verfahren wird Wasser in Mengen von $\frac{1}{10}$, 1 und 10 ccm in Gärungsröhren mit Smithscher Lösung verimpft. Der Gebrauch von 3 Röhren für jede zur Untersuchung kommende Probe bedingt dort, wo viele Prüfungen vorgenommen werden, die Verwendung einer großen Anzahl von Röhren.

Im Mt. Prospect Laboratory (Department of Water Supply, Gas and Electricity, New York) laufen nicht selten täglich 40—50 Wasserproben ein. Dies erfordert täglich etwa ein Gros Röhren und ist nach der alten Methode praktisch kaum durchführbar.

Um diesen Schwierigkeiten abzuhelpen und um die Arbeit bei der Probe zu erleichtern, hat der Autor ein Gestell ersonnen. Zu seiner Herstellung ist Kupferblech benutzt worden, obschon galvanisiertes Eisen gleichfalls, und zwar mit geringeren Kosten, verwandt werden könnte. Das Gestell ist im Gebrauch am bequemsten, wenn es 9 Zoll lang, 5 Zoll hoch und an der Basis $4\frac{1}{2}$ Zoll breit ist. Hinsichtlich der Länge des Gestells haben wir uns von der Größe des Brutschrankes leiten lassen. Natürlich kann es je nach Bequemlichkeit des untersuchenden Bakteriologen länger oder kürzer gemacht werden. Indessen haben sich die Gestelle in den oben angegebenen Größenverhältnissen stets als sehr passend erwiesen.

Das Gestell ist leicht und dauerhaft; es können daran keine Federn oder Schrauben in Unordnung kommen. Die Röhren gleiten oder fallen nicht herunter und können leicht in die richtige Lage gebracht werden. Man kann sie leicht umordnen, in systematischer Reihenfolge einstellen und so das Numerieren jeder einzelnen Röhre vermeiden. Das Gestell nimmt wenig Platz ein im Verhältnis zu der Anzahl von Röhren, die es beherbergt.

Es ist im Mt. Prospect Laboratory seit mehreren Monaten im Gebrauch und man ist vollkommen damit zufrieden.

Winslow, C. E. A. und Belcher, D. M., Veränderungen in der Bakterienflora von Abwässern während der Lagerung.

Die Verff. unternahmen eine Untersuchung der quantitativen Veränderungen der hauptsächlichsten Bakteriengruppen in aufgespeichertem Abwasser, besonders im Hinblick auf das Schicksal der Eingeweidebakterien und mit Rücksicht darauf, ob sich die besonders diesem Standorte angepaßten Formen vermehren würden.

Frisches Hausabwasser wurde in eine mit einem Stöpsel versehene Glasflasche getan und in Zwischenräumen wurden Platten hergestellt. Hierzu wurde das Abwasser so stark verdünnt, daß sich nur einige 20 Kolonien bildeten. Jede Kolonie wurde dann isoliert und im einzelnen auf Agar, Gelatine, Kartoffel und Dextrosebouillon verarbeitet; die Organismen wurden nach ihren Reaktionen auf diesen Medien in annähernd natürliche Gruppen eingeteilt. Eine weitgehende Verschiedenheit der Formen stellte sich heraus, unter denen die Kokken die chromogenen Mikroorganismen, die Gruppen von *B. subtilis*, *B. coli* und *B. rhinoscleromatis*, sehr zahlreich waren. Die Gesamtzahl der Bakterien stieg während des Lagerens des Abwassers nach 24 Stunden um das Zehnfache ihrer ursprünglichen Menge; dann nahm sie während eines Zeitraumes von 10 Monaten ab. Die zuerst in der Minderzahl befindlichen fakultativen Anaerobier vermehrten sich fortwährend in den ersten 48 Stunden und waren danach zahlreicher als die obligaten Aerobier. Im allgemeinen jedoch betraf das Steigen der Gesamtzahl der Bakterien sämtliche Hauptgruppen in gleicher Weise. Die Vermehrung der Kokken, der chromogenen Arten und der *B. subtilis*-Gruppe war am meisten ausgesprochen, aber alle vermehrten sich ohne Ausnahme in den ersten 24 Stunden und nahmen dann an Zahl ab. Abwasser scheint nicht ein ungünstigeres Medium für die Eingeweidebakterien als für andere Formen zu sein und es zeigt sich beim Experiment auch keine Neigung zum Vorherrschen von besonderen und im Abwasser vorkommenden Formen.

Die vollständige Arbeit erscheint im Journal für Infektionskrankheiten. Vol. I. No. 1.

Gorham, F. G., Die lichterzeugenden Bakterien.

Der Verf. untersuchte nach der Methode des Bacteriological Committee 20 von den 24 Arten der leuchtenden Bakterien, welche die Literatur angibt. Er fand, daß sie sich alle auf zwei Gruppen zurückführen ließen. Die erste Gruppe enthielt Bacillenformen; die Glieder dieser Gruppe sind von großem Umfange, veränderlicher Form, bringen Gelatine nicht oder doch nur sehr langsam zur Verflüssigung und gedeihen am besten bei einer Temperatur unter 32° C, sogar bis zu 10° C. Die Glieder der zweiten Gruppe sind *Microspira*-Formen von kleinem Umfange, verflüssigen Gelatine sehr rasch und brauchen eine Temperatur von wenigstens 22° C, um zu wachsen und Licht zu erzeugen. Alle diese Arten stammten aus europäischen Quellen.

In Amerika finden sich Glieder beider Gruppen, die ersteren auf Fleisch in den Kühlapparaten der Fleischerläden, wo die niedrige Temperatur ihr Gedeihen begünstigt, die zweiten in Seewasser, auf Fischen oder anderen Substanzen, die in mehr oder weniger inniger Berührung mit Seewasser oder Seesalz gewesen sind. Glieder der zweiten Gruppe finden sich auch in den Körpern verschiedener Arten von Schattieren, welche sie für einige Zeit zu sekundärer Phosphoreszenz bringen, sie aber auch möglicherweise töten.

Der Charakter des von den pathogenen Bakterien produzierten Lichtes wurde bestimmt, auch die Abwesenheit von Wärme-, X- und anderen Strahlen, die Stellung des Lichtes im Spektrum — ein kontinuierlicher Streifen in Blau und Grün — seine Intensität, Dauer und chemische Wirksamkeit, welche das Photographieren von Kolonien und Kulturen bei ihrem eigenen Lichte ermöglichte.

Diese Bakterien ließen sich auf sehr einfachen Medien, wie z. B. einer Auflösung von Asparagin in destilliertem Wasser, züchten. Durch Hinzufügung gewisser Substanzen konnte man genau die zur Lichterzeugung erforderlichen chemischen Stoffe bestimmen. Sie bestanden in gewissen organischen Säuren, die aus der Zersetzung des Asparagins stammten, in etwas Natrium oder Magnesiumsalz und Sauerstoff. Die physikalische Veränderung, die Energie in der Form von Lichtwellen auslöst, ist dann die Verbindung von Natrium oder Magnesium mit den Säuren bei Gegenwart von Sauerstoff oder die spätere Oxydation der so gebildeten Produkte. Ob dieselbe Veränderung nicht ohne die Mitwirkung der Bakterienzelle vor sich gehen kann, ist ein Problem für den Chemiker.

Robin, A., Ein Versuch zur Erzielung gleichmäßig zusammengesetzter Nährstoffe für Medien.

Der Verf. betont die Notwendigkeit der Gleichförmigkeit in der Zusammensetzung von Nährmedien in Fällen, wo Saprophyten zu untersuchen sind oder quantitative bakteriologische Arbeit geleistet werden soll. Er zeigt unter Bezugnahme auf eine Reihe von Ergebnissen von Bakterienzählungen, daß Fleischextrakt besser sein kann als Fleisch, falls es auf die relative Anzahl der erzielten Bakterien ankommt. In einer Reihe von Untersuchungen ergab Gelatine, die aus Armour's Fleischextrakt bereitet war, die doppelte Anzahl von Bakterien pro Kubikcentimeter als Gelatine, die aus Fleisch hergestellt war. In beiden Fällen war die Gelatine nach der Vorschrift des Laboratory Committee of the American Public Health Association angefertigt worden. Der Verf. zeigt ferner unter Bezugnahme auf die von dem erwähnten Committee zusammengestellte Tabelle, daß sehr große Abweichungen in der von verschiedenen Bakteriologen hergestellten Gelatine zu bemerken sind, Abweichungen hinsichtlich des Schmelzpunktes, in der Menge des Natriumchlorids und der Azidität. Um diese unerwünschten Abweichungen so viel wie möglich zu verhindern, schlägt der Verf. vor, daß die Lieferanten für Bakteriologen alle zur Bereitung von Medien verwandten Nährstoffe normalisieren. Dies ist folgendermaßen zu verstehen: Extrakt von Rindfleisch z. B. muß aus einem einzigen Tier gewonnen und in passenden Behältern bewahrt werden; jedes Stück ist mit einer fortlaufenden Nummer und einer Aufschrift zu versehen, die den Betrag von festen Bestandteilen, Chloriden und die Azidität angibt. Gleicherweise sollten Pakete von Gelatine ein einziges, mit einer fortlaufenden Nummer versehenes Stück darstellen und mit einer Aufschrift versehen sein, die den Schmelzpunkt und die Gesamtazidität angibt. Alle anderen

im Handel erhältlichen Nährstoffe sollten erst untersucht werden, um ihre Brauchbarkeit für bakteriologische Zwecke zu bestimmen. Es wäre auch wünschenswert, eine Normallösung von HCl zu besitzen, die die Bakteriologen der verschiedenen Laboratorien zur Kontrolle benutzen könnten. Die von verschiedenen Bakteriologen, welche dasselbe Stück benutzen, auf diese Weise erzielten Resultate würden einwandsfreies Material für Vergleichen liefern.

Frederic P. Gorham (Providence).

Referate.

Desmots, Production de l'acétylméthylcarbinol par les bactéries du groupe du *Bacillus mesentericus*. (Comptes rendus de l'académie des sciences. T. CXXXVIII. p. 581.)

Schon Grimbert war es gelungen, unter den Stoffwechselprodukten des *Bacillus tartricus* Acetylmethylkarbinol nachzuweisen. Verf. konnte die Bildung dieses Körpers auch bei der Einwirkung von Bakterien aus der Gruppe des *Bac. mesentericus* auf Kohlehydrate beobachten. Untersucht wurden: *Bac. mesentericus vulgatus*, *B. fuscus* Flügge, *B. flavus* Baumgarten, *B. niger* Beijerinck, *B. ruber* Migula.

Alle diese Bacillen spalten in 2-proz., mit Calciumkarbonat versetzter Peptonlösung Glycerin, Mannit, Glukose, Saccharose unter Inversion, Dextrin, Inulin, Stärke Kartoffeln. Die Einwirkung findet langsam und ohne bemerkbare Gasentwicklung statt, der Zucker verschwindet indessen vollständig. Unter den gebildeten Produkten wurden Essigsäure, Valeriansäure und kleine Mengen Aethylalkohol nachgewiesen. Aus dem Destillat der Nährflüssigkeit ließ sich durch Erwärmen mit essigsauerm Phenylhydrazin auf dem Wasserbad ein Osazon gewinnen, das durch seine geringe Löslichkeit, durch seinen Schmelzpunkt (243°) und durch die Umwandlung in Biacetylosotetrazon vom Schmelzpunkt 151, die es bei der Behandlung mit oxydierenden Agentien erleidet, als Osazon des Acetylmethylkarbinols identifiziert wurde. Alle darauf untersuchten Abarten des *Bac. mesentericus* bildeten aus den oben erwähnten Kohlehydraten Acetylmethylkarbinol. Die Menge des gebildeten Karbinols stieg zunächst auf ein Maximum, um dann, offenbar durch weiteren Zerfall dieses Körpers, wieder abzufallen. Die aus den Nährflüssigkeiten gewonnenen Destillate zeigten alle deutlich eine Linksdrehung der Polarisationssebene, die von der Anwesenheit des asymmetrisch konstituierten Acetylmethylkarbinols verursacht ist, wie durch besondere quantitative Versuche nachgewiesen wurde.

Auch dem *Bac. mesentericus* verwandte Bakterien, insbesondere *Bac. subtilis* und *Tyrophthrix tenuis* produzierten in gleicher Weise bemerkbare Mengen Acetylmethylkarbinol.

Verf. empfiehlt den leichten Nachweis dieses Körpers in der Nährflüssigkeit als biochemische Reaktion zur Differenzierung der Arten.

Koeppe (Hannover).

Shibata, K., Ueber das Vorkommen von Amide spaltenden Enzymen bei Pilzen. (Chem. Beiträge zur Physiologie und Pathologie. Bd. V. 1904. p. 384.)

Die aus *Aspergillus niger* dargestellten zellfreien Extrakte bewirken Abspaltung von NH_3 aus Harnstoff, Biuret, Acetamid und Oxamid, nur in geringem Grade jedoch aus Urethan und Asparagin, gar nicht aus Guanidin, Allantoin, Harnsäure und Benzamid. Hippursäure wird in ihre Komponenten, Glykokoll und Benzoësäure gespalten. Von den Aminosäuren werden Glykokoll, Leucin und Asparaginsäure nicht angegriffen, während indessen aus Alanni und Tyrosin ein wenig NH_3 abgespalten wird. Wie weit das Enzym oder die Enzyme des *Aspergillus niger*, durch welche die NH_3 -Abspaltung hervorgerufen wird, und die Verf. als Amidase bezeichnet, mit Urease identisch ist oder auch nur verwandt ist, kann erst durch weitere Untersuchungen genauer festgestellt werden.

Heinze (Halle a. S.).

Kossel, A. und Dakin, H. D., Ueber die Arginase. (Zeitschr. f. physiologische Chemie. Bd. XLI. 1904. p. 321.)

Zwei Gruppen heben sich aus der großen Zahl der Fermente ziemlich scharf hervor, und zwar sind dies einmal die sogenannten „oxylytischen“ Fermente, die sauerstofflösenden, welche die Zerspaltung der durch ein O-Atom vereinigten organischen Gruppen im Bereich der Fette und Kohlenhydrate herbeiführen, und dann die imidlösenden, sogenannten „imidolytischen“ Fermente, welche die gleichen oder ähnliche Zersetzungen bei den Eiweißkörpern und der Hippursäure, wahrscheinlich aber auch bei vielen anderen organischen Stoffen, hervorrufen; im übrigen steht den letzteren in dem Fermente der Harnstoffgärung ein „amidolytisches“ Ferment zur Seite.

Aus den Untersuchungen der Verff. geht nun hervor, daß im tierischen Organismus 2 verschiedene Gruppen imidolytischer Fermente zu finden sind, deren erstere die Imidogruppe nur von dem benachbarten Karbonyl ablöst (Trypsin, Erepsin), während die zweite Gruppe eine Abtrennung des Harnstoffs nach dem Schema $\text{NH}_2\text{—CO—NH}_2$, $\text{NH}_2\text{—C} \dots$ bewirkt. In der „Arginase“ ist von den Verff. ein Körper der letzteren Art gefunden worden.

Weiterhin wollten die Verff. zunächst feststellen, ob die Zersetzung der Protamine durch das Erepsin quantitativ verläuft und fanden dabei, daß beim Behandeln von 15 g Klupeinsulfat mit 150 ccm Erepsinlösung eine völlige Abspaltung des Argimins vor sich geht; indessen erhielten die Verff. bei Versuchen in größerem Maßstabe doch ein völlig anderes Ergebnis: Das Erepsin mußte nach kurzer Zeit unwirksam geworden sein, so daß die Protone unwirksam blieben; dagegen mußte ein anderes Ferment in Wirksamkeit getreten sein, welches den größten Teil des Arginins in Ornithin und Harnstoff zerlegt hatte. Nach den Verff. muß dieses Ferment als Arginase angesprochen werden. Auch konnte durch weitere Versuche mit der Darmschleimhaut das Vorkommen der Arginase in diesem Gewebe festgestellt werden; ferner kommt dieses Ferment in der Lebersubstanz vor und kann durch Extraktion mit

Wasser und mit verdünnter Essigsäure gewonnen werden, obschon die Extraktion eine ziemlich unvollkommene ist. Die Arginase wird gefällt durch Aussalzen mit Ammoniumsulfat und durch Alkohol und Aether. Die Arginasewirkung verläuft, wie einige Versuche ergaben, sehr schnell; die Leichtigkeit, mit welcher die Spaltung des Arginins hier in Ornithin und Harnstoff vor sich geht, steht im auffallenden Gegensatze zu der Widerstandsfähigkeit dieser Verbindung gegen siedende Säuren. Die Versuche über Arginase werden von den Verff. weiter fortgesetzt.

Ein weiteres allgemeines Studium der mannigfachen Enzymwirkungen, welche nicht nur theoretisch, sondern auch praktisch eine immer größere Bedeutung gewinnen, muß entschieden sehr dankbar begrüßt werden.

Heinze (Halle a. S.).

Nakayama, M., Ueber das Erepsin. (Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. XLI. 1904. p. 348.)

Durch den Verf. ist die Frage zu entscheiden versucht worden, ob das Erepsin ein spezifisches Enzym ist, und ob es in der Schleimhaut des Dünndarmes von Pflanzenfressern vorkommt. Aus Spaltungsversuchen, welche mit Nukleinsäure ausgeführt wurden, geht nun zunächst hervor, daß das Trypsin außerstande ist, eine tiefgreifende Spaltung der Homonukleinsäure herbeizuführen; dasselbe Ergebnis hatten auch Versuche, welche mit den übrigen Nukleinsäuren angestellt wurden. Danach kann also kein Zweifel bestehen, daß bezüglich der Wirkung auf die Nukleinsäuren ein prinzipieller Unterschied zwischen Erepsin und Trypsin besteht. Wenn man alsdann auch die von Cohnheim festgestellten Tatsachen in Betracht zieht, daß hinsichtlich der Fällungsgrenze mit Ammoniumsulfat und der vernichtenden Temperatur das Erepsin nicht unerhebliche Abweichung vom Trypsin zeigt, so geht man nach dem Verf. in dem Schlusse wohl nicht fehl, daß die in Rede stehenden Enzyme zwei ganz verschiedene Verbindungen sind, welche ähnliche Wirkungen auf die Peptone ausüben. Weitere Versuche zeigen auch übereinstimmend, daß die Peptone durch die schwach alkalischen Darmauszüge von Rindern und von Kaninchen allmählich in abiurete Produkte umgewandelt werden. Diese Tatsache muß nun im Verein mit dem Umstande, daß die in Rede stehenden Darmauszüge auch spaltend auf die Darmnukleinsäure einwirken, zu der Schlußfolgerung führen, daß in der Darmschleimhaut (Dünndarm) von gewissen Pflanzenfressern ein Enzym vorhanden ist, welches mit dem Hundeerepsin eine große Aehnlichkeit aufweist.

Heinze (Halle a. S.).

Heinze, B. und Cohn, E., Ueber milchzuckervergärende Sproßpilze. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLVI. 1904. p. 286.)

Als milchzuckervergärende Pilze sind bis jetzt näher studiert worden die *Torula*-Formen, auch *Torula*-Hefen genannt, welche mit den *Saccharomyceten* oder echten Hefen darin übereinstimmen, daß sie sich durch Sprossung vermehren und nur ausnahmsweise Mycel bilden, sich aber durch mangelnde Sporenbildung von ihnen unterscheiden. Ueber die nachfolgenden

Torula-Formen haben die Verff. alles Bekannte zusammengestellt: 1) *Torula Duclaux*, 2) der von Adametz beschriebene Pilz; 3) Beijerincks *Saccharomyces Kefir* und *Saccharomyces Tyrocola*, welcher ein regelmäßiger Bewohner des „Edamer Käses“ ist; 4) *Lactomyces inflans caseigrana* von Boicchio aus lombardischem „Granakäse“; 5) der aus Butter von Jensen isolierte Sproßpilz; 6) mehrere von Macé aus verschiedenen Käsesorten isolierte Sproßpilze; 7) *Torula amara* von Harrison, aus bitterer Milch isoliert.

Außer diesen *Torula*-artigen Sproßpilzen sind auch laktosevergärende Pilze beschrieben worden, welche man zu den echten Hefepilzen rechnen muß, da bei denselben endogene Sporenbildung beobachtet wurde: 1) *Saccharomyces acidilactici* Grotenfelt aus finnländischer Milch; 2) Weigmanns milchzuckervergärende Hefe aus fehlerhafter Butter; 3) *Saccharomyces fragilis* n. sp. Jörgensen, als Beimengung zu Kefirkörnern gefunden; 4) die von Adametz-Winkler und von Mix aufgefundenen Sproßpilze; 5) die *Saccharomyceten* von v. Freudenreich und Jensen in dem sogenannten „Sauer“ bei Studien über den Naturlab gefunden; 6) Jensens aus Butter isolierte Hefe und 7) Macés Hefe aus „Port du Salut-Käse“.

Weiterhin gelten noch als „Laktosevergärer“ 2 hefeähnliche Schimmelpilze: 1) *Monilia variabilis*, 2) *Sachsia suaveolens* n. sp. ad interim von Lindner, sogenannter „Weinbouquetschimmel“, jedenfalls verwandt mit Bays „*Sachsia albicans*“.

Einer eingehenden Untersuchung unterzogen haben die Verff. 2 laktosevergärende, im vorstehenden bereits erwähnte Sproßpilze: *Saccharomyces lactis* Adametz und *Sacch. Tyrocola* Beijerinck. Sie prüften dieselben in Bezug auf morphologische Eigenschaften in Platten-, Strich- und StICKkulturen, auf Hautbildung und etwaige Sporenbildung, weiterhin in Bezug auf Physiologie und Biologie: ihr Verhalten gegen Alkohol, neutrale, saure und alkalische Medien, gegen Luft- bzw. Sauerstoffzutritt, gegen Temperaturen, ihre Säurebildung und ihren Säureverbrauch, sowie ihr Vermögen, alkoholische Gärung von Milchzucker einzuleiten. Die beiden untersuchten, in vielen Punkten übereinstimmenden, aber doch verschiedenen Mikroorganismen verweisen die Verff. ganz entschieden in die Klasse der *Torula*-Formen wegen mangelnder Sporenbildung, wenn sie es nach den Untersuchungen von E. Chr. Hansen über die „Hefesporen als Sporangien“, sowie nach dessen früheren Untersuchungen über verloren gehende und eventuell wieder zu erzeugende Sporenbildung auch nicht für ausgeschlossen halten, daß manche sogenannten *Torula*-Formen es unter Umständen einmal zur Sporenbildung bringen können und alsdann zu den echten *Saccharomyceten* gestellt werden müssen; andere *Torula*-Formen werden später vielleicht als Entwicklungsformen höherer Pilze erkannt.

Das Schlußkapitel ist der Bedeutung der laktosevergärenden Sproßpilze für die Milchwirtschaft, sowie für den menschlichen Organismus gewidmet. Die in Frage stehenden Sproßpilze können

schädlich und auch nützlich wirken. Auf den menschlichen Organismus sind bisher schädliche Einwirkungen noch nicht beobachtet worden; tierpathogene Eigenschaften fehlen. Von Bedeutung könnten die Sproßpilze werden für den milchwirtschaftlichen Betrieb, wenn es gelänge, eventuell unter Mitwirkung von Milchsäurebakterien, immer ein geschmacklich einwandfreies, kefirähnliches Getränk aus Vollmilch zu gewinnen, da die Kefirgärung nur zu oft ganz anormal verläuft, so daß an Stelle von gutem Kefir nur saure Milch resultiert, noch dazu oft mit recht unangenehmem Beigeschmack. Der Wert eines kefirartigen Getränkes würde naturgemäß abhängen von der ursprünglichen Zusammensetzung und den unter dem Einfluß der Gärung erfolgten Veränderungen. Bei gleichzeitiger Verwendung von Milchsäurebakterien gehen in der Milch folgende Veränderungen vor: ein Teil des Milchzuckers verschwindet und es tritt an seine Stelle Milchsäure, Alkohol und Kohlensäure; das Kasein fällt aus, aber ein Teil desselben wird gelöst, wobei Peptone entstehen. Schlechte Produkte enthalten meist nur minimale Mengen Alkohol, dagegen beträchtliche Mengen Milchsäure, eventuell auch die für kranke Personen nachteiligen flüchtigen Säuren, wie Butter- und Essigsäure. Schill (Dresden).

Krause, P., Untersuchungen einiger Dauerhefepräparate des Handels, mit besonderer Berücksichtigung ihrer biologischen Eigenschaften und therapeutischen Verwertbarkeit. (Therapie der Gegenwart. 1904. März.)

Nach einer kurzen Uebersicht über die Bedeutung der Hefe als Krankheitserreger, ferner über ihre Anwendung als Mittel zum Nachweis von Traubenzucker im Harn, sowie über ihre therapeutische Verwendung in der Medizin berichtet Verf. über eine Reihe von vergleichenden Untersuchungen einiger Dauerhefepräparate des Handels. Er geht dabei von dem Standpunkt aus, dasjenige Hefepräparat sei als das beste anzusehen, welches keine lebenden Hefezellen mehr besitzt, dagegen bei geringem Wassergehalt die größte Gärkraft, bakterizide und verdauende Eigenschaften aufweist. Geprüft wurden folgende Präparate: Zymin, Levure de Bière, Roosche Tabletten, Cerevisine, Levurinose, Furunkuline, Reolkapseln. Unter dem Gesichtspunkte der therapeutischen Verwendbarkeit ist nach den Untersuchungen des Verf. zweifellos Zymin das beste und empfehlenswerteste Präparat, von der übrigen käme allenfalls noch Levure de Bière in Betracht. G. Jochmann (Breslau).

Mieko, K., Untersuchung von Fleisch-, Hefen- und anderen Extrakten auf Xanthinkörper. 2. Die Xanthinkörper der Hefeextrakte. (Zeitschr. f. Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel. Bd. VII. 1904. p. 257.)

Die zu Genußzwecken verwendeten Hefeextrakte enthalten eine große Menge Xanthinstoffe, was vorauszusehen war, da durch die Arbeiten Schützenbergers, Kossels, Nägelis, Lehmanns u. a. der Gehalt der Hefe an derartigen Stoffen schon bekannt war.

Verf. fand im Verlauf seiner Untersuchung, daß das Adenin die Hauptmasse der in dem Hefenextrakte enthaltenen Xanthinstoffe bildet. Dem Adenin folgen dann der Menge nach das Guanin, das Hypoxanthin und schließlich das Xanthin. Es ist nicht ausgeschlossen, daß neben den genannten auch noch andere Xanthinkörper in den untersuchten Extrakten enthalten waren. Ihre Menge kann aber nur eine untergeordnete sein. Das Karnin, welches in der Hefe vorkommen soll, konnte Verf. bei der Untersuchung des Hefenextraktes nicht nachweisen. Verwendet wurde der „Dresdener Würz- und Kraftextrakt“ des Handels. Koeppen (Hannover).

Thiele, R., Die Vorgänge bei der Zersetzung und Gerinnung der Milch. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLVI. 1904. p. 394.)

Eine fragmentarische Arbeit ohne abschließendes Resultat. Nach kurzer Darstellung des heutigen Standes der Kenntnisse von der spontanen Milchsäurebildung und Schilderung der Methodik berichtet Thiele über Versuche zwecks Entscheidung der differenten Ansichten von Günther und Thierfelder einer- und Kozai andererseits, ob stets außer der reinen Rechtsmilchsäure eine Mischung von inaktiver mit der rechtsdrehenden Modifikation vorhanden sei. Zu diesem Zwecke entnahm Th. vielen Milchwagen Halles 1 l Milch und überließ diese Milch 4 Tage lang bei Zimmer- oder Brüttemperatur der freiwilligen Säuerung: Sämtliche bei Zimmertemperatur gewonnene Proben ließen Rechtsmilchsäure erkennen, die im Brüttschrank gesäuerten nur die inaktive Form. Im wesentlichen dasselbe Resultat ergaben weitere Versuche. In allen Proben bei Zimmertemperatur hatte der *Bac. acidi paralactici* Kozai die Oberhand, vereinzelt der *Micrococcus acidi paralactici liquefaciens* Kozai und der *Bac. acidi laevolactici*. Von 168 Stunden ab errang die inaktive Milchsäure das Uebergewicht und zeigten sich bald nur noch Spuren von Rechtsmilchsäure. Die Untersuchung der bei Brüttemperatur gehaltenen Proben ergab Bestätigung der Resultate Kozais gegen Günther und Thierfelder. Nach 60 Stunden war in fast allen Proben eine Drehung des polarisierten Lichtes nicht mehr zu beobachten. Bakteriologisch herrschte in den bei Brüttemperatur gehaltenen Proben der Linksmilchsäurebacillus Kozai vor, während der Rechtsmilchsäurebacillus sehr in den Hintergrund gedrängt wurde. Versuche mit steriler frischer Milch ergaben, daß der Stoffwechselprozeß für den *Bac. acidi paralactici* Kozai bei Brüttemperatur weniger rasch verläuft als bei Zimmertemperatur. Auffällig war aber, daß bei der steril von der Kuh entnommenen Milch bei 37° einige Male inaktive Milchsäure auftrat, ohne daß der Linksmilchsäurebacillus nachweisbar war. Sterilisierte gekochte Milch ergab allgemeine Paramilchsäure. Schill (Dresden).

Koning, C. J., Bijdrage tot de kennis van het leven der humicole fungi en van de scheikundige processen welke by de humificatie plaats hebben. (Verhandelingen

kon. Akademie van Wetenschappen. Amsterdam 1903. II. Sectie. 9. Deel. No. 7.)

In früheren Arbeiten zeigte Verf., daß Pilze aus Waldhumus isoliert werden können. Verf. teilt hier ausführlich mit, welche Pilze stets im Waldhumus vorhanden sind, welche sich auf den Blättern der Eichen, Buchen und Kiefern aufhalten, und welche in Sporenform in der Waldluft schweben. Bei der Humifikation spielen 2 Pilze eine hervorragende Rolle: 1) *Trichoderma Koningi* Oud. Es verwertet den Stickstoff der Humussäure als Nahrung, nicht aber den Kohlenstoff. 2) *Cephalosporium Koningi* Oud. Es ernährt sich vom Kohlenstoffe der Blätter, indem es wahrscheinlich Enzyme abscheidet, welche die Zellhäute der Blätter chemisch verändern. — Sehr genau wird das Nahrungsbedürfnis der beiden Pilze studiert, doch dürfte es zu weit führen, alle Einzelheiten anzuführen.

Matouschek (Reichenberg, Böhmen).

Fritsch, E. F., Two fungi parasitic on species of *Tolypothrix* [*Reticularia nodosa* Dang. and *R. Boodlei* n. sp.]. (Annals of Botany. Vol. XVII. 1903. p. 649—664. Mit 1 Tafel.)

Die Kenntnis der Systematik und Biologie der Gattung *Reticularia* Dang. (Fam. Ancylistaceae) erfährt durch die vorliegende Arbeit mehrfach Erweiterung bzw. Modifikation.

Gattungscharakter: Mycel teils endophytisch, teils ektophytisch. Ersteres septiert oder unseptiert, moniliform, gelegentlich Chlamydosporen bildend. (Verf. spricht sich gegen die von Dangeard behauptete sexuelle Entstehung dieser Sporen aus.) Sporen von ähnlichem Aussehen (wie das der Chlamydosporen) werden gelegentlich auch an dem mehr oder weniger septierten und reich verzweigten, ektophytischen Mycel gebildet. Andere Teile des letzteren Mycels funktionieren als Ansteckungshyphen.

Sporangien am endophytischen Mycel; ihr Inhalt teilt sich nach Sprengung der Algenwirtzelle in wenige Zoosporen mit je einer Cilie.

Arten: *R. nodosa* Dang.

Endophytisches Mycel gewöhnlich septiert und verzweigt, zahlreiche Chlamydosporen; Ansteckungshyphen selten; ektophytisches Mycel zart, gleichfalls Chlamydosporen (aber endständige) bildend. Zoosporen kommen vor.

In den Fäden von *Lyngbya aestuarii* und *Tolypothrix* sp.

R. Boodlei Fritsch n. sp.

Endophytisches Mycel gelegentlich septiert, selten verzweigt, keine Chlamydosporen bildend; ektophytisches Mycel verzweigt, zahlreiche dünnwandige Sporen bildend. Ansteckungshyphen zahlreich.

In den Fäden von *Tolypothrix* sp. Neger (Eisenach).

Petersen, H. E., Note sur les Phycomycètes observés dans les téguments vides des nymphes de Phry-

ganées, avec description de trois espèces nouvelles de Chytridinées. (Journal de Botanique. T. XVII. 1903. p. 214 bis 222. c. 3 fig.)

Die leeren im Wasser treibenden Hüllen der Insektennymphen bilden bekanntlich ein bevorzugtes Substrat für Phycomyceten, speziell sind es die Hüllen der Phryganiden, die eine besonders reiche Phycomycetenflora aufweisen. Auf diesen fand Verf. im nordwestlichen Seeland häufig *Aphanomyces laevis* und *A. scaber*, seltener *A. stellatus*, *Olpidiopsis Aphanomyces* und *Obelidium mucronatum*, sowie die Vertreter drei neuer Gattungen:

Rhizoclosmatium globosum n. gen. et spec. Die Sporangien sind in der Größe sehr variabel, durchschnittlich 17 bis 20 μ diam., kugelförmig, hyalin, glatt. Das Mycelium besteht aus sehr zarten, vielfach verzweigten langen Hyphen. Das Sporangium sitzt der stark verbreiterten Basis des Mycels, dem subsporangialen Teile, auf. Die Zoosporen sind 2—3 μ breit, kugelförmig oder eiförmig mit sehr langem Flagellum versehen und gelangen nach und nach durch eine runde Oeffnung des Sporangiums nach außen. Die Gattung steht *Diplophlyctis* am nächsten.

Asterophlyctis sarcoptoides n. gen. et spec. Im Aufbau erinnert diese Art sehr an *Rhizoclosmatium*, unterscheidet sich jedoch durch die mit stacheligen Hervorstülpungen versehenen Sporangien und durch die Art des Austretens der Zoosporen.

Siphonaria variabilis n. gen. et spec. Dieser Gattung fehlt der subsporangiale Teil; sie ist mit *Obelidium* sehr nahe verwandt.

H. Sydow (Berlin).

Thaxter, Roland, New or peculiar North American Hyphomycetes. III. (Botan. Gazette. Vol. XXXV. 1903. p. 153—159. Mit 2 Taf.)

Auf Exkrementen wurden folgende neue Gattungen mit den Arten gefunden: *Heterocephalum aurantiacum* (auf Froschexkrementen in Jamaica, auf Ziegenexkrementen auf den Philippinen), *Cephalophora tropica* (auf verschiedenen Exkrementen in Liberia, Java, China und Jamaica) und *Cephalophora irregularis* (auf Mäuseexkrementen auf Porto-Rico). Verf. kultivierte diese 3 Arten jahrelang, ohne die ascusführenden Fruchtformen aufzufinden.

Matouschek (Reichenberg).

Maire, R., Recherches cytologiques sur le *Galactinia succosa*. (C. R. Ac. des Sc. 1903 9 novembre.)

Dieser Pilz schließt Milchsäuretröhen ein, in denen eine Flüssigkeit enthalten ist, deren chemische Natur unerkant ist und welche Safranin fixiert. Diese Flüssigkeit findet sich im Epiplasma mit reichlichen Oelabsonderungen und einigen metachromatischen Körperchen; Glykogen ist nicht vorhanden. Die Mutterzellen der Asken sondern basophile Granulationen ab gleich denjenigen, die Verf. bei jungen Basidien gefunden hat. Der Kern spielt eine Rolle bei dieser Absonderung, denn er wird acidophil, mit Ausnahme des Nucleolus.

Die Bildung der Mutterzellen der Asken weist eine beachtenswerte Eigentümlichkeit auf; statt durch Bildung eines Häkchens zu entstehen, wie dies Dangeard bei *P. vesiculosa* beschrieben hat, entstehen sie aus einem Fädchen, der aus 2—3 linearen binukleären Zellen besteht; bei der letzten dieser Zellen verschmelzen die Kerne und sie wird die Mutterzelle der Asken. Dieser Vorgang ist dem Bildungsmodus der Basidien analog.

Die Kernteilung geschieht durch Karyokinese gleich der von Harper beschriebenen. Die Spindel und die Centrosome bilden sich auf Kosten des Kerns; die Zahl der Chromosome beträgt vier; sie stammen von Protachromosomen ab.

Die Sporen bilden sich auf Kosten des Kinoplasmas.

Guilliermond (Lyon).

Maire, R., Remarques taxonomiques et cytologiques sur le *Botryosporium pulchellum*. (Annales mycologici. Vol. I. 1903. No. 4. p. 135—140.)

Botryosporium pulchellum entspricht nach Meinung des Verf. einem Pilz, der irrigerweise von Ellis und Kellerman unter dem Namen *Cephalosporium dendroides* beschrieben worden ist.

Der interessanteste Teil dieser Arbeit beschäftigt sich mit der cytologischen Untersuchung dieses Pilzes. Die äußersten Enden der im Wachstum befindlichen Fäden enthalten Kerne, die zu färben sind, unter der Form von Kügelchen mit 1—2 Nukleolen, das Protoplasma ist stark gefärbt. In einem vorgerückteren Stadium enthalten die Fäden Kerne, die gut zu färben sind, eine Kernmembran und ein Hyaloplasma aufweisen, in welchem sich einige Karyosome finden, die durch Chromatinleisten vereinigt sind. Die Kernteilung scheint durch Karyokinese bewirkt zu werden, aber man kann die Einzelheiten des Vorganges nicht verfolgen. In diesem Stadium befinden sich in den Zellen eine große Anzahl Granulationen und Kristalle, welche Reaktionen der metachromatischen Körperchen aufweisen. Die Kristalle lösen sich in einem vorgerückteren Zeitpunkte in metachromatische Granulationen. Diese Körperchen dringen gleichzeitig mit den Kernen in die Sporen ein.

Verf. bringt uns den Werdegang der metachromatischen Körperchen wieder vor Augen und betrachtet dann die neuesten Arbeiten über diese Frage. Diese Körperchen werden von manchen Forschern als Reservestoffe angesehen; andere hingegen betrachten sie als Entartungsprodukte. Verf. hatte sie schon bei *Ustilago Maydis* studiert und als Entartungsprodukte bezeichnet. Die Art und Weise, wie diese Körperchen sich bei *Botryosporium* verhalten und ihr Eindringen in die Sporen, ebenso neuerdings von Guilliermond angestellte Forschungen über die Hefearten und die Ascomyceten, bewegen ihn dazu, sie jetzt als Reservestoffe zu betrachten. Indessen scheint es Körper zu geben, welche dieselben metachromatischen Eigenschaften aufweisen, aber infolge anderer Kennzeichen doch verschieden sind und die anscheinend zu den

Entartungsprodukten gerechnet werden müssen, wie z. B. metachromatische Körperchen, die Matruchot und Molliard bei *Stichococcus bacillaris* beschrieben haben.

Guilliermond (Lyon).

Atkinson, Geo. F., The genus *Harpochytrium* in the United States. (Annales mycologici. Vol. I. 1903. p. 480—502. Mit 1 Tafel.)

Verf. beobachtete in Ithaca auf *Spirogyra*-Fäden einen Pilz, welcher sich bei näherer Untersuchung als dem *Harpochytrium Hyalothecae* Lagerheim nahestehend erwies. Verf. beschreibt die Struktur des vegetativen Pilzkörpers sowie die Bildung der Zoosporen und kommt dann auf die Beziehungen seines Pilzes zu Lagerheims *Harpochytrium*, Gobi's *Fulminaria mucophila* und Dangeards *Rhabdium acutum* zu sprechen. Er weist nach, daß der Stiel dieses Organismus den Wirtsalgen nicht nur oberflächlich aufsitzt, wie Gobi behauptet hatte, auch nicht unter Durchbohrung der Zellwand dem Protoplasmaschlauch der Wirtszelle anliegt (wie Dangeard beobachtet haben will), sondern daß der Stiel mittels einer scheibenartigen Erweiterung zwischen der äußeren und inneren Lamelle der Algenzelle wurzelt. Rhizoiden, welche Lagerheim am unteren Ende des Stieles vermutete, sind nicht vorhanden. Daß der Organismus Parasit ist (was Gobi bestreitet), schließt Verf. daraus, daß in einem Fall, wo ein Individuum dem anderen aufsaß, das als Wirt dienende an der Zoosporenbildung gehindert wurde. Ferner bestätigt Verf. die Beobachtung Lagerheims und Dangeards, daß nach Entleerung des Sporangiums im Inneren desselben die Bildung eines neuen Sporangiums stattfinden kann. Eingehend beschreibt er sodann den Vorgang der Entleerung des Sporangiums. Schon innerhalb des letzteren macht sich eine amöboide Bewegung der Sporen geltend, nach dem Austritt dauert die Bewegung kurze Zeit fort, um sodann in die für den Organismus charakteristische blitzartige Bewegung überzugehen. Während Gobi bei dem ihm vorliegenden Organismus beobachtet haben will, daß das Flagellum sich in die Schleimscheide der Wirtsalge einbohrt, um hier den Stiel zu bilden, kann Verf. diese Erscheinung nicht bestätigen, vielmehr nimmt er an, daß dieser Stiel aus einem Pseudopodium hervorgeht.

Was endlich die Systematik der Gattung und der von den verschiedenen Verff. beobachteten Formen anlangt, so kommt Atkinson (zum Teil auf Grund von Infektionsversuchen) zu folgender Uebersicht:

Harpochytrium Lagerheim (Synon.: *Fulminaria* Gobi, *Rhabdium* Dang.).

1) *H. Hyalothecae* Lagerh. auf *Hyalotheca dissilicus* (Finnland und Nordamerika), *Sphaerosozma vertebratum*, *Cosmocladium* sp., *Dictyosphaerium* sp. (Finnland);

2) *H. Hedenii* Wille auf *Spirogyra* und *Oedogonium* (Frankreich), *Spirogyra*, selten *Zygnema* (Nordamerika), *Zygnema* und *Spirogyra* (Tibet) und *Zygnema* (Patagonia);

3) *H. intermedium* Atkinson auf *Conferva utriculosa* (Nordamerika).

Die Gattung will Verf. (mit Schroeter) zu den Rhizidaceen gestellt wissen. Neger (Eisenach).

Matruchot, L. et Mollard, M., Sur le *Phytophthora infestans*. (Annales mycologici. Vol. I. 1903. p. 540—543.)

Verff. berichten über Kulturen des genannten Pilzes auf verschiedenen Substraten und die dabei beobachteten Wachstumserscheinungen: Auf frischen Kartoffelschnitten gedeiht der Pilz gut bei einer Temperatur von 15—18°, desgleichen auf Kürbis, sowie auf der spanischen Melone; von toten natürlichen Substraten eigneten sich im Autoklaven sterilisierte Schnitte dieser letzteren Früchte, nicht aber diejenigen von Kartoffeln. Endlich wurde versucht, den Pilz auf künstlichen Nährböden zu kultivieren; am besten eignete sich ein Dekokt von Kürbis, weniger gut eine 3-proz. Glukoselösung oder Kürbisdekoktgelatine.

Bei 30° hört das Wachstum des Pilzes auf, dagegen hält er leicht tiefe Temperaturen (wie —5 bis —10°) aus; das Optimum liegt bei 15°.

Sporen werden nur auf lebenden Substraten gebildet; bei saprophytischer Lebensweise sind die Sporen spärlich oder bleiben ganz aus. Chlamydosporen oder Oosporen wurden nicht erhalten. Da die Konidien ihre Keimkraft frühzeitig einbüßen, überdauert der Pilz die schlechte Jahreszeit offenbar als Mycel.

Eine Desorganisation (Auflösung) der Gewebe wird durch das Wachstum des Pilzes auf der Kartoffel nicht bewirkt, vielmehr sind derartige Erscheinungen auf die Tätigkeit von Bakterien zurückzuführen, für welche der Pilz allerdings die Lebensbedingungen vorbereitet. Neger (Eisenach).

Voglino, P., Sul parassitismo e lo sviluppo dello *Sclerotium cepivorum* Berk. sull'*Allium sativum* L. (Stazioni sperimentali agrarie. Vol. XXXVI. 1903. p. 89.)

In der Umgebung von Turin wird seit einigen Jahren der Knoblauch durch *Sclerotium cepivorum* Berk. gefährdet, da dieser Pilz eine Konidienform besitzt, die sich als *Sphaecelia Allii* Voglino zunächst im Fleisch der Niederblätter entwickelt. Der weiße Pilz dringt später durch die Blattscheiden hindurch und zerstört sämtliche Gewebe bis auf die Gefäßbündel, so daß die Laubblätter vergilben und vertrocknen. Später erscheinen zahlreiche, 0,4—0,5 mm große Sklerotien, die bei der Keimung zahllose, kugelförmige Konidien ausbilden. Der Pilz verbreitet sich also auf beiden Wegen, und da beiderlei Konidien den Winter im Boden sehr gut aushalten, so ist nur das Aufgeben der *Allium*-Kultur zu raten. Pantanelli (Zürich).

Peglion, V., La nebbia (early blight) delle patate, *Alternaria Solani*. (Italia Agricola. Vol. XL. 1903. p. 12—13. Mit Tafel.)

Der Nebel der Kartoffeln wird von *Alternaria Solani* nach Sorauer (*Macrosporium Solani* nach den Amerikanern)

verursacht, die nur die Blätter angreift und auf den ersten Blick mit *Phytophthora infestans* verwechselt werden könnte; die letztere greift aber auch die Knollen an. Beim Nebel treten auf den Blättern unregelmäßige, tiefbraune, trockene, durch die Nerven scharf begrenzte und von einem Saum chlorotischen Gewebes umgebene Flecken auf. In feuchter Kammer nehmen diese Dürreflecken nicht zu und es erscheinen bald die charakteristischen Fruchtorgane von *Alternaria* mit den keulenförmigen, braunen Sporen. — Obwohl nur die Blätter befallen werden, stirbt schließlich bei starkem Angriff die Pflanze ab. Daher leiden am meisten spät reifende Sorten, wie z. B. Reichskanzler und Kaiser Richter, weniger Märker, Wohltmann. Als Gegenmittel empfiehlt Verf. starke Bordeauxbrühe mit 0,15 Proz. Chlorammonium. Die Krankheit hat sich bei Migliarino (Ferrara) etwas verbreitet, schadet aber bisher nur wenig.

Pantanelli (Modena).

Petri, L., La formazione delle spore in *Naucoria nana* n. sp. (Nuovo Giornale Botanico. [2]. Vol. X. 1903. p. 357—371. Mit Taf. III.)

Ein neuer Beitrag zur Karyogamie bei höheren Tieren. Die angewandte neue Art wird später beschrieben werden. Die nukleären Verschmelzungs- und Teilungsvorgänge vollziehen sich im großen und ganzen wie bei dem früher untersuchten *Hydnangium carneum*. Jeder Konjugationskern wandert nach der Spitze des Basidiums und verliert dort seine Membran, während das freigeordnete Chromatin sich zu 8 Chromosomen verteilt; darauf teilt sich der Kern transversal und beide Tochterkerne wandern wieder nach dem Grunde des Basidiums zurück, während 2 aus dem Nukleolus des Mutterkernes entstandene Richtungskörperchen an der Stelle zurückbleiben, woraus die Sterigmen herausstülpen; diese Polarkörnchen bleiben mit den Kernen durch zarte Fibrillen in Verbindung. Während der Sporenentwicklung kehren wieder die Kerne nach der Spitze des Basidiums zurück und verlieren dort die Membran; das Chromatin zerstreut sich im Plasma, ein Teil davon bis in die Sporen hineintretend. Es bildet sich also in der Spore ein großer Haufen Chromatin, der fast wie ein doppelter Kern aussieht. Obwohl es nicht zur Entscheidung kam, ob in der Spore 2 Kerne schon von Anfang aus entstehen oder ob eine Teilung stattfindet, nimmt Verf. an, ein Synkarion (cfr. Maire, Rev. gén. d. botan. 1902) sei in der Spore schon vorhanden und die Bildung der Konjugationskerne im Basidium hebe schon die im Verlaufe der vegetativen Entwicklung stetig zunehmende geschlechtliche Differenzierung der beiden Kerne des Synkarions auf.

Pantanelli (Zürich).

Petri, L., Ricerche sul significato morfologico e fisiologico dei prosperoidi (sporangiole di Janse) nelle micorrize endotrofiche. (Nuovo Giornale Botanico. [2]. Vol. X. 1903. p. 541—562.)

Als „Sporangiole“ bezeichnete Janse eigentümliche Auftreibungen der in Wurzelknollen von *Podocarpus*-Arten vorkommenden Pilzhyphen. Nun sucht Verf. die Natur dieser Gebilde

festzustellen und den gastenden Organismus auf künstlichen Substraten zu züchten. Als Objekt dienten endotrophe Mykorrhizen von *Podocarpus chinensis*, *elata*, *dacrydioides*, *elongata*, *lalifolia*, *macrophylla*. Die Wurzeln wurden mit Sublimat oder Carnoyschem Säuregemisch fixiert und auf diese Weise konnte der Fortschritt der Infektion verfolgt werden. Es ist zu bemerken, daß diese Arbeit schon abgeschlossen war, als die Abhandlung Shibatas erschien.

Die in eine Zelle eindringende Pilzhyphe richtet sich zunächst nach dem Kern, welcher von einigen Seitenästen bald umschlungen wird, und setzt dann ihr Wachstum fort. In diesen Seitenästen sieht man große Proteintropfen, welche sich nach der Fadenspitze begeben, um dort die Sporangiolien, die Verf. als Prosporiden bezeichnet, zu bilden. Diese runden Gebilde bestehen anfangs aus einem cellulosehaltigen Gerüst und einem eiweißartigen Fleisch, in späteren Stadien bekommt man aber mit Jod nur eine gelbe Färbung. Dann zerfallen diese Kügelchen in unzählige, herumschwimmende, winzige Körnchen, welche aber immer nur den Wert eines Eiweißniederschlags und nie die geringste Struktur oder Form, geschweige Ähnlichkeit mit den Bakteroiden der Leguminosen haben.

Im infizierten Rindenparenchym der *Podocarpus*-Knollen bekommt man starke Guajakreaktion auf Oxydasen. Aus den bei 35° getrockneten, mit Aether erschöpften Wurzelknollen konnte auf verschiedenem Wege ein Pepsin dargestellt werden.

Die oben erwähnten Körner entwickelten sich in Plattenkultur oder im hängenden Tropfen nicht weiter. Wohl aber konnte aus solchen Knollen, wo der Zerfall der Hyphenspitzen noch nicht begonnen hatte, eine *Thelaviopsis* (s. unten) isoliert werden. Die Hyphen dieses Pilzes zeigen in Reinkulturen kugelige Anschwellungen, die in keiner Beziehung zu den Prosporiden stehen und die Verf. auch bei gewöhnlichen Schimmelpilzen wieder findet und eingehend studiert. Die Richtigkeit dieser Beobachtungen kann Ref. nur bestätigen. Sehr interessant ist es, daß gleichzeitig mit der Bildung solcher Auftreibungen eine große Menge oxalsauren Kalkes ausgeschieden wird. Dasselbe geschieht auch in den Wurzelknollen, nur daß hier das Salz, wahrscheinlich unter Mitwirkung der Humussäuren, schnell exosmiert. Wurde das mit endotropher Mykorrhiza reich versehene Wurzelsystem eines *Arum italicum* in Wasser getaucht, so waren die Wurzeln nach 2 Monaten an den Invasionsstellen mit reichen kristallinischen Effloreszenzen bedeckt.

Verf. hält es nach alledem für wahrscheinlich, daß der mykorrhizabildende Pilz (im speziellen Falle eine *Thelaviopsis*) in die ungeschützten Protoplasten der Wurzelzellen eindringen kann, welche aber zu einer so starken Pepsinbildung angeregt werden, daß der Pilz selbst bald zerstört und verdaut wird.

Pantanelli (Zürich).

Dieterl, P., Bemerkungen über die Uredineengattung *Zaghouania* Pat. (Annales Mycologici. Vol. I. 1903. No. 3. p. 256—257.)

Genaue Beschreibung der Teleutosporen und deren Entwickelung.

Zweite Abt. Bd. XIII.

16

lung. Die Promycelien treten, ihrer gewöhnlichen Richtung entgegengesetzt, nach dem Innern des Sporenlagers aus, daher sind sie und die an ihnen hervorsprossenden Sporidien der schädlichen Einwirkung der trockenen Luft fast ganz entzogen. Die Sporidien treten mit ihr nicht eher in Berührung, als bis sie völlig ausgewachsen sind. Ihre Membran aber ist andererseits derb genug, um sie selbst unter klimatischen Umständen keimfähig zu erhalten, unter denen die zarten Sporidien anderer Arten zu Grunde gehen würden. Dies gilt vor allen anderen von *Zaghouania Phillyrae* (DC.) Pat., welche in einem Klima (z. B. Istrien bei Rovigno) auftreten, das während eines großen Theiles des Jahres sehr trocken ist. Man bemerkt deutlich die enge Anpassung des Pilzes an das trockene Klima. Matouschek (Reichenberg, Böhmen).

Dietel, Paul, Ueber die auf Leguminosen lebenden Rostpilze und die Verwandtschaftsverhältnisse der Gattungen der Pucciniaceen. (Annales Mycologici, herausgegeben von H. Sydow. Jahrg. 1903. Bd. I. Berlin 1903. No. 1. p. 3—14. Mit 7 Textfiguren.)

Eine phylogenetische Arbeit mit folgenden Hauptresultaten: 1) Die primitiven Pucciniaceen sind einzellig gewesen, der Gattung *Uromyces* gleich, da *Uromyces*-Arten auf Pflanzen aus den verschiedensten Familien der Mono- und Dikotyledonen vorkommen. 2) Die Stammformen der Gattung *Uromyces* sind schon zu einer Zeit gewesen, wo die Entwicklung der einzelnen Species und Gattungen noch nicht auf einen engen Kreis von Nährpflanzen beschränkt war oder vielleicht die Zahl der vorhandenen Angiospermen auf eine verhältnismäßig geringe Anzahl von Typen noch beschränkt war. 3) Diese gleiche Bemerkung gilt für die Gattung *Puccinia* — und so kann angenommen werden, daß bereits in jener frühen Entwicklungsperiode der Uebergang von einzelligen Formen zu zweizelligen erfolgte oder auch, daß vielleicht ein Teil der primitiven Stammformen gemischtsporig gewesen sei, ein- und zweizellige Sporen besessen habe, wie sie jetzt noch bei *Puccinia heterospora* B. et C. und einer Anzahl ähnlicher Arten vorkommen. 4) Die Gattung *Uropyxis* steht der Gattung *Puccinia* am nächsten; an *Uropyxis* schließt sich *Phregmopyxis* an, aber auch wegen des Cystenapparates die Gattung *Ravenelia*, die andererseits mit *Anthomyces* wegen des Auftretens von Längsteilungen innerhalb der Zellen verwandt ist. *Sphaerophragmium* steht der *Ravenelia* nahe. Wie die Gattung *Puccinia* durch Querteilung der Sporen aus *Uromyces* entstanden ist, so ist *Diorchidium* aus dieser durch Hinzukommen einer Längsscheidewand abzuleiten. *Gymnosporangium* hat wegen des Baues der Teleutosporen mit *Phragmidium* gemeinen Ursprung.

Matouschek (Reichenberg, Böhmen).

Dietel, P., Ueber die Teleutosporenform von *Uredo laeviuscula* D. et H. und über *Melampsora Fagi* D. et Neg. (Annales Mycologici. Vol. I. 1903. p. 415—417.)

Als *Uredo laeviuscula* beschrieb Verf. früher (*Erythea* II.

p. 127) eine in Kalifornien auf *Polypodium californicum* auftretende Uredinee, von welcher bisher die zugehörigen Teleutosporen nicht bekannt waren. Bei nochmaliger Untersuchung des Original-exemplares wurden die Teleutosporen jedoch auf den allem Anscheine nach vorjährigen Wedeln aufgefunden. Sie werden hier in den Zellen der unterseitigen Epidermis gebildet, sind vielzellig und füllen meist die Zellen ganz aus. Sie haben zarte Membranen, sind 15—20 μ breit und ca. 20 μ hoch.

Die Art gehört ohne Zweifel in die nahe Verwandtschaft von *Melampsorella Kriegeriana* P. Magn. und *Mel. Feurichii* P. Magn. Die typischen Vertreter der Gattung *Melampsorella* weisen einzellige und nur gelegentlich mehrzellige Teleutosporen auf, während sowohl die kalifornische Uredinee wie auch die beiden von Magnus benannten Species fast nur mehrzellige Teleutosporen bilden. Verf. hegt daher Bedenken, ob es richtig ist, die farnbewohnenden Uredineen der Gattung *Melampsorella* zuzuweisen. Größer ist nach ihm die morphologische Uebereinstimmung der betreffenden Pilzformen mit den typischen Arten von *Thekopsora*, sodaß er die obengenannte *Uredo laeviuscula* zu letzterer Gattung stellt.

Die in Englers Bot. Jahrb., Bd. XXII, p. 355 beschriebene Uredinee auf *Fagus obliqua* aus Chile (*Melampsora Fagi*) ist zu streichen. Die seinerzeit dieser Art zugeschriebenen Teleutosporen haben sich als gebräunte Palissadenzellen der Nährpflanze erwiesen.
Sydow (Berlin).

Blasdale, W. C., On a rust of the cultivated snap-dragon. (Journal of Mycology. Vol. IX. 1903. p. 81—82.)

Puccinia Antirrhini Diet. et Holw. auf kultiviertem *Antirrhinum majus* ist in Kalifornien auf ein kleines, um die San Francisco-Bay gelegenes Areal beschränkt, zerstört aber dort die Nährpflanze fast vollständig. Kürzlich fand Verf. den Pilz auch auf dem wild wachsenden *A. vagans*, auch gelang es, den Pilz künstlich auf *Linaria reticulata* und *L. amethystina* zu übertragen. Da *Antirrhinum majus* in Kalifornien erst seit kurzem kultiviert wird, so ist der Rost anscheinend von dem wild wachsenden *Antirrhinum* auf die kultivierte Species übergegangen, welche er nunmehr zu bevorzugen scheint.

H. Sydow (Berlin).

Rose, Otto, Der Flugbrand der Sommergetreidesaaten und Maßnahmen zur Bekämpfung dieses Pilzes in der landwirtschaftlichen Praxis. [Inaug.-Diss.] 8°. 59 p. Mit vielen Tabellen. Rostock 1903.

Die in der vorliegenden Arbeit zur Beschreibung gelangenden Versuche sind in der Hauptsache Freiland- und Topfkulturversuche auf dem Versuchsfelde und dem Versuchsgarten der Rostocker landwirtschaftlichen Versuchsstation. Das Areal betrug 437 qm, davon waren 200 qm leichter Sandboden, während der Rest aus 237 qm humosen Sandbodens in feuchterer Lage bestand. Das zu den Versuchszwecken benutzte Land war im Frühjahr mit rauher Winterfurche übernommen; es erfolgte keine Frühjahrssaatfurche.

Die Zeit der Bestellung fiel in die Zeit vom 27. März bis 23. Mai.

Es wurden erprobt 41 Gersten-, 63 Hafer- und 48 Sommerweizensorten.

Das zur künstlichen Infektion der Saat benutzte Sporenmaterial stand in reichlichem Quantum und möglicher Artreinheit, sowie Keimfähigkeit zur Verfügung.

Das Erkrankungsverhältnis ist ein sehr ungleiches. Einige Getreidesorten wurden, obwohl künstlich stark mit Flugbrand infiziert, wenig oder gar nicht von der Erkrankung nachteilig beeinflusst, andere hingegen litten besonders stark.

Nach den Resultaten der Versuche stellt sich als Folgerung heraus, daß alle zum vergleichenden Anbau gelangten nacktsamigen Gerstensorten die stärkste Disposition für Flugbrand zeigten; minder stark ist diese im allgemeinen für die zweizeiligen Gersten; am geringsten zeigt sie sich bei hartbespelzten mehrzeiligen und begranneten Gersten.

Bezüglich der Hafersorten ließen sich keine Unterschiede zwischen den Fahnen- gegenüber den Rispenfasersorten oder den schwarzsamigen Spielarten erkennen.

In dem Sommerweizensortiment wurde der Spelz mit zum vergleichenden Anbau gebracht. Nach den Versuchen scheint diese Getreideart, welche in keinem Falle eine Infektion aufwies, zum mindesten weniger als der Sommerweizen für den Weizenflugbrand zu inklinieren.

Die Frühbestellung zeigt entschieden eine Verminderung des Flugbrandes bei allen Sommergetreidearten, späte Saatzeit ruft vermehrtes Auftreten desselben hervor.

Was die verschiedene Erwärmungsfähigkeit der Kulturböden in Beziehung zur Flugbrandentwicklung anlangt, so erwies sich, daß, völlig analog der Erwärmungsfähigkeit des Bodens, ein mehr oder weniger starkes Auftreten von Brandbahnen stattgefunden hat. Eine höhere Bodentemperatur zeitigt eine Vermehrung der Erkrankung durch Flugbrandbacillen bei allen 3 Sommergetreidearten.

Eine starke einseitige Chilisalpeterdüngung hat eine Verminderung der Flugbranderkrankung zur Folge und kann einen besonderen Typus befallener Ähren resp. Rispen bei Gerste und Hafer hervorrufen.

Eine $\frac{1}{2}$ —1-proz. Kreolinlösung ist als Beizflüssigkeit bei einer Einwirkungsdauer von 10—20 Minuten auf das Saatgut, unter dauerndem Umrühren für Gerste, Hafer wie Sommerweizen mit Erfolg gegen Flugbrand anzuwenden.

Das mit Kreolin präparierte Saatgut ist durch die vorgenommene Prozedur vor Vogelfraß geschützt.

Weit davon entfernt, durch die gefundene neue Methode altbewährte verdrängen zu wollen, ist Verf. bei seinen Versuchen bemüht gewesen, einen Beitrag zur Erweiterung der Kenntnisse über den Flugbrand und dessen praktische Bekämpfung zu geben.

E. Roth (Halle a. S.).

Salmon, E. S., Ueber die zunehmende Ausbreitung des amerikanischen Stachelbeer-Mehltaus (*Sphaerotheca mors uvae* [Schwein.] Berk. et Curt.) in Europa. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. p. 205.)

Nachdem Salmon im Jahre 1900 das erste Auftreten des Pilzes in Irland beobachtet hatte, mehrten sich die Funde in Europa schnell. In Irland trat die Krankheit in mehreren Stachelbeerzuchtereien auf, in Rußland wurde sie 1901 zum ersten Male festgestellt. Seitdem ist sie auch an anderen Stellen Rußlands verheerend aufgetreten. Es liegt die Vermutung nahe, daß die Krankheit auch andere Länder überziehen wird. Verf. warnt deshalb jetzt schon die Gartenbesitzer und fordert sie zu energischen Verhütungs- und Vernichtungsmaßregeln auf. In Amerika kommt der Pilz auch an Johannisbeeren vor, so daß er möglicherweise in Europa auch an diesem Obst gefunden werden wird. Lindau (Berlin).

Salmon, E. S., On specialisation of parasitism in the Erysiphaceae. (Beihefte z. botan. Centralbl. Bd. XIV. 1903. p. 261—316. Mit Taf. XVIII.)

In der Einleitung bespricht Verf. einzelne Punkte aus Arbeiten, die sich mit der Spezialisierung des Parasitismus bei den Erysipheen beschäftigen, und geht dann über zu der Darstellung seiner sich auf *Bromus*-Arten und auf andere Gramineen erstreckenden experimentellen Untersuchungen. Verf. konstatiert, daß es biologische Formen des Grasmehltaues gibt, die sich aber durch die Farbe der Konidienrasen \pm auffallend unterscheiden. Diese Erscheinung ist der Beginn einer morphologischen Differenzierung der biologischen Formen, die ja sonst morphologisch ganz übereinstimmen.

Für eine Zahl von Reihen von Mehltauformen, die *Bromus*-Arten bewohnen, stellt Verf. nun durch Infektionsversuche die möglichen Wirtspflanzen fest. Diejenigen Infektionen nun, die gar nicht oder nur unvollkommen gelangen, nennt Verf. „Subinfektionen“. Greifen wir, um ein Beispiel zu geben, nun eine Reihe heraus:

A. *Oidium graminis* von *Bromus interruptus* (der zur Sektion *Serrafalcus* gehört) infiziert völlig *Bromus mollis* (derselben Sektion), unvollkommen *Bromus brizaeformis* und *Bromus velutinus* (beide zu der obigen Sektion gehörig), gar nicht aber andere Arten dieser Sektion (z. B. *Bromus arvensis*, *commutatus*, *macrostachys*, *racemosus*, *secalinus*) und gar nicht Arten anderer Sektionen (z. B. *Bromus asper*, *ciliatus*, *errectus*, *maximus*, *sterilis*, *unioloides*). Sonderbarerweise aber gelang eine vollkommene Infektion auf *Bromus tectorum* (zur Sektion *Stenobromus* gehörig). B. *Oidium graminis* von *Bromus chordeaceus* (Sektion *Serrafalcus*) infiziert vollkommen z. B. *Bromus commutatus* und *mollis* (derselben Sektion) und *Bromus tectorum* (Sektion *Stenobromus*), unvollkommen: *Bromus brizaeformis*, *velutinus* und *secalinus* (alle zur Sektion *Serrafalcus* gehörig), gar nicht z. B. *Bromus arvensis*, *racemosus*, *maximus*, *sterilis*, *asper*, *errec-*

tus, macrostachys, madritensis, giganteus, inermis, patulus, crinitus und arduennensis. C. Oidium graminis von Bromus tectorum (zur Sektion Stenobromus gehörig) infiziert stets vollkommen Bromus sterilis (derselben Sektion). Matouschek (Reichenberg).

Salmon, Ernest S., Cultural experiments with „Biologic Forms“ of the Erysiphaceae. [Kulturversuche mit biologischen Formen der Erysiphaceen.] (Proceedings of the Royal Society. Vol. LXXIII. 1904. p. 116—118.)

Durch zahlreiche Impfversuche war gezeigt worden, daß bei den parasitischen Rostpilzen (Uredineen) und Mehltaupilzen (Erysipheen) die Sporen einer durch ihre Charaktere scharf umgrenzten Art immer nur wieder dieselbe Wirtspflanzenart, auf der sie gebildet waren, infizieren konnten, und diese Wirtspflanze von den auf einer anderen Wirtspflanzenart gebildeten Sporen derselben parasitischen Pilzart nicht infiziert wird. Man nannte dies die Specialisation des Parasitismus. Referent hat solche an bestimmte Wirtspflanzen angewöhnte Rassen als Gewohnheitsrassen parasitischer Pilze bezeichnet, und Rostrup hatte sie passend biologische Formen genannt.

Salmon zeigt nun, daß er durch Eingriffe, welche die Lebenskraft des Zellgewebes von Stellen der Blätter der Wirtspflanze herabsetzten, die beschränkte Infektionskraft der biologischen Rassen aufheben konnte.

Solche Erfolge erzielte er, wenn er ein kleines Stückchen Blattgewebe von der Unterseite der Blätter durch einen Schnitt entfernte und dann die Konidien (abgegliederte einzellige Fortpflanzungskörper) auf die Oberseite der Schnittstelle aussäte. Dann drangen die Keimschläuche der Konidien auch in solche Arten ein, in deren gesunde Blätter die Keimschläuche von Konidien derselben Herkunft nicht eindringen.

Denselben Erfolg erzielte er durch andere Verletzungen. Wenn er mit einem heißen Messer wenige Sekunden die obere Epidermis eines Blattes berührte, so wurden die benachbarten Zellen empfänglich für die Keimschläuche der Konidien einer biologischen Form, für welche die unversehrten Blätter nicht empfänglich waren.

Salmon möchte annehmen, daß die Zellen einer jeden Wirtspflanzenart einen Stoff oder Stoffe — möglicherweise ein Enzym — enthalten, solange das Blatt unverletzt ist und die Zellen kräftig sind. Durch dieses Enzym widerstehen sie den Angriffen der nicht speziell angepaßten Rassen und nur diese können den Widerstand des Enzyms überwinden. Wenn aber die Lebenskraft der Zellen durch Eingriffe geschwächt wird, so wird dieses Enzym zerstört oder seine Kraft gemindert, so daß diese Zellen nicht mehr dem Angriff anderer Rassen oder Formen widerstehen können.

Salmon vermutet, daß dies häufig in der Natur durch Hagel, Sturm, Wind, Angriffe von Tieren, z. B. Blattläusen, geschieht und dadurch Pflanzen den Angriffen parasitischer Pilze zugänglich werden, gegen die sie bisher immun waren. So mag sich

das plötzliche Auftreten von Pflanzenkrankheiten durch parasitische Pilze erklären, gegen die die Wirtspflanzen bisher immun waren.

P. Magnus (Berlin).

Salmon, E. S., Cultural experiments with the Barley mildew. *Erysiphe graminis* DC. (Annales mycologici. Vol. II. 1904. p. 70—100.)

Nachdem von Marchal nachgewiesen war, daß *Erysiphe graminis* in eine Reihe von biologischen Formen zerfällt, vom Verf. selbst ferner gezeigt worden war, daß auch der auf *Bromus*-Arten lebende Mehltau in mehrere Rassen zerfällt, sucht er in der vorliegenden Untersuchung zu ermitteln, ob bei der auf *Hordeum* lebenden *Erysiphe graminis* verschiedene biologische Formen zu unterscheiden sind, sowie, ob die Arten und Varietäten der praktisch wichtigen Gerstenarten einen verschieden hohen Grad von Empfänglichkeit für die Infektion erkennen lassen.

Verf. konstatiert die Beobachtung Marchals, daß der Pilz von *H. vulgare* nicht *H. maritimum*, *H. secalinum* und *H. bulbosum* zu infizieren vermag, ebenso nicht die von Marchal als Wirtspflanzen der *E. graminis* f. *Hordei* angegebenen Arten *H. jubatum* und *H. murinum*, wohl aber *H. zeocriton*, *H. hexastichon*. Endlich blieb auch auf *H. silvaticum* Infektion aus.

Bei den Versuchen mit *H. secalinum* zeigte sich nachträglich (16 Tage nach der Impfung) eine schwache Infektion, welche mit der Zeit zunahm, während Kontrollpflanzen von *H. vulgare* nach 12 Tagen schon stark infiziert waren.

Verf. führt dies auf den ungünstigen Einfluß der Kulturbedingungen, unter denen die Versuchspflanzen standen, zurück und ist der Ansicht, daß sie unter normalen Verhältnissen gegen den Pilz von *H. vulgare* immun sei. (Jedenfalls muß sie aber demnach als Wirtspflanze der genannten biologischen Form bezeichnet werden entgegen dem Resultat von Marchal!)

Auch sonst zeigten sich im allgemeinen an immunen Wirtspflanzen gelegentliche, geringfügige — schnell wieder verschwindende — Infektionen (sogenannte Subinfektionen), welche Verf. so erklärt, daß er annimmt, die Wirtzelle setze dem eindringenden Haustorium ein Enzym entgegen, welches wohl zur Unschädlichmachung eines oder auch zweier Haustorien ausreiche, nicht aber den Angriff weiterer Haustorien abwehren könne.

Die Frage der Empfänglichkeit verschiedener Arten und Rassen (bei Kultur im Freien) entscheidet Verf. dahin, daß allerdings einzelne Rassen eine mehr oder weniger große Widerstandsfähigkeit gegen den Pilz erkennen lassen. Weitere Mitteilungen werden in Aussicht gestellt.

Im zweiten Teil der Arbeit behandelt Verf. die Frage, ob es möglich ist, die Pflanzen durch Zuführung von Kupfervitriol durch die Wurzeln gegen Pilzinfektion immun zu machen, ähnlich wie dies bei diesbezüglichen Versuchen mit *Bremia lactucae* und *Phytophthora* gelang.

In diesem Sinn angestellte Experimente mit Getreidearten und

nachfolgender Infektion mittels eines geeigneten *Oidium* ergaben durchaus negative Resultate; die Versuchspflanzen litten unter der Giftwirkung des Salzes und blieben dabei doch noch empfänglich für den Pilz. Neger (Eisenach).

Cieslar, Adolf, Waldbauliche Studien über die Lärche. (Centralbl. f. d. ges. Forstwesen. Wien 1904. Heft 1. 27 p.)

Uns interessiert hier nur das II. Kapitel: Die Beziehungen zwischen der Lärche und dem Lärchenkrebspilze (*Peziza Willkommii* R. H.).

1) Zur Infektion und wirksamen Schädigung durch diesen Krebspilz ist eine Prädisposition des betreffenden Organes der Lärche nötig, die man im allgemeinsten Sinne als „Herabdrückung der Lebensfunktionen“ bezeichnen kann. Diese Herabstimmung der Funktionen kann auf mechanischem Wege erreicht werden, z. B. Herabbrechen der Aeste unter teilweiser Entrindung, Fegen und Schälen durch Wild, starke Invasion durch die Lärchenminiermotte *Coleophora laricella* Hbn., Verwundung durch *Tortrix Zebeana* Ratz., oder durch Schaffung ungünstiger Vegetationsbedingungen, z. B. mangelhafter Lichtgenuß, nicht zusagender, also zu feuchter oder ausgesprochen trockener armer Boden, stagnierende feuchte Luft im dichten Bestande. Dadurch wird ein Kränkeln und Kümmeren der Lärche oder einzelner Organe derselben verursacht. Der Krebs sitzt nur in den seltensten Fällen in der Nähe der Wundstellen, bedeckt vielmehr die Spitzen der Aeste. Eine unter zusagenden Verhältnissen und daher kräftig vegetierende Lärche hat vom Lärchenkrebspilze, auch wenn sie der Pilz infolge konkreter Umstände befallen sollte, nichts zu fürchten. Das Auftreten der *Peziza* ist stets ein sekundäres. Nur infolge einer nicht naturgemäßen waldbaulichen Behandlung der Lärche nimmt und nahm auch früher der Pilz überhand. Dies lehren die seit dem 3. und 4. Dezennium des vorigen Jahrhunderts ausgeführten großen Fichten-Lärchen-Mischkulturen. Sobald die Lärche den Daseinskampf mit der Fichte aufnehmen mußte, begann das große Sterben der ersteren.

2) Verbreitung des Pilzes in der mährisch-schlesischen Lärchenheimat und in den Alpen, wo er z. B. in der Adamellogruppe bis 2375 m emporsteigt.

3) *Peziza Willkommii* ist kein reiner Parasit, denn sonst müßten auch die jugendlichen Lärchen von etwa 2–5 Jahren schon von der Krebskrankheit befallen werden, was selbst mitten in Krebsherden nur außerordentlich selten vorkommt. Einen Erklärungsgrund hierfür etwa in den anatomischen Verhältnissen der jungen Lärchen zu suchen, wie dies z. B. bei den Kiefernjährlingen dem *Lophodermium Pinastris* gegenüber mit ziemlicher Berechtigung geschehen konnte, erscheint nicht angängig. Gelegentlich der Untersuchung eines großen, durch die Schneelast mehrerer Winter ziemlich stark zusammengepreßten Asthaufens (der Lärche) fand Verf. sehr viele und sehr schöne Fruchtkörper des Schädling, ein Zeichen, daß Luftfeuchtigkeit das Gedeihen des Pilzes sehr fördert und daß er sich in seinem Charakter einem Saprophyten nähert. Matouschek (Reichenberg).

Laubert, R., Eine neue, sehr verbreitete Blattfleckenkrankheit von *Ribes alpinum*. (Naturw. Zeitschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jahrg. II. 1904. p. 56—58.)

Das makroskopische Bild dieser in Berlin (Tiergarten, Bellevue, Steglitz etc.) häufigen Krankheit ist kurz folgendes: Die Blätter sehen wie gesprenkelt aus. Die Flecke sind regellos zerstreut, rundlich, mehr oder weniger zahlreich, ca. 3 mm im Durchmesser und gleichmäßig schwarz; an der Unterseite sind die Flecken mehr kaffeebraun und zeigt hier einige Pusteln; bei starkem Befall werfen die Sträucher viele Blätter frühzeitig ab. Die Krankheit tritt aber ungleichmäßig auf (im Jahre 1902 sehr stark, 1903 spärlich). Mikroskopisches Bild: Auf der Blattunterseite brechen scheibenförmige Sporenlager hervor; dieselben werden unter der Epidermis angelegt, haben 0,2—0,8 mm Durchmesser; die Sporen entstehen einzeln an den Hyphenenden, sind farblos, 1-zellig, spindelförmig, etwas gekrümmt, zartrandig; Cystiden ähnliche Hyphenenden (wie bei *Gl. Lindemuthianum*) fehlen. Außer in den Flecken werden zuweilen Konidienlager auch an nicht verfärbten Blattstellen (an der grünen Blattunterseite, selten auch an der Oberseite) entwickelt. Wegen dieser Eigentümlichkeit — daß Sporenlager sowohl unter Bildung von Flecken als ohne solche zur Ausbildung kommen — nennt Verf. den Pilz *Gloeosp. variabile*. Von anderen auf *Ribes* wachsenden *Gloeosporium*-Arten ist der Pilz wohl unterschieden. Von *Gl. tubercularioides* durch die Fleckenbildung, von *Gl. Ribis* durch die Größe und Form der Konidien, desgleichen von *Gl. curvatum*.

Neger (Eisenach).

Bartelletti, V., Sopra una particolare alterazione della corteccia di *Pterospermum platanifolium*. (Nuovo Giornale Botanico. Vol. X. 1903. p. 563—575.)

Verf. beschreibt eine eigentümliche Hypertrophie der Rinde von *Pterospermum platanifolium*, welche durch keinen Parasiten hervorgerufen wird. Unter den Lenticellen der jüngsten Aeste erfahren die Zellkerne des Rindenparenchyms amitotische Teilung und darauf eine merkbare Degeneration, während gleichzeitig mit einer lebhaften Zellteilung das neugebildete Parenchym sich mit Oeltropfen vollfüllt. Oel kommt ja in normalen Geweben dieser Pflanze nie vor. Bald ragt die Geschwulst aus der Epidermis hervor und bedeckt sich mit einer dünnen Korklage, deren Zellwände die kollenchymatischen Verdickungen des normalen Korkes der Pflanze nicht besitzen. Die Auswucherung verbreitet sich unter allmählicher Verflüssigung der Mittellamellen der älteren Parenchymzellen, so daß endlich eine von tiefen Rissen und lysigenen Hohlräumen durchgesetzte Kruste entsteht, welche oft auch Steinzellen enthält. Die Bakterien und Schimmelpilze, welche die Kruste in diesem Stadium bewohnen, stehen offenbar in keiner ätiologischen Beziehung zu diesem Krebs; noch nicht zerrissene Geschwülste sind pilz- und bakterienfrei. Die Pflanze wird davon wenig beschädigt, weil das Holz nie angegriffen wird.

Pantanelli (Modena).

Kindt, Ludwig, Die Kultur des Kakaobaumes und seine Schädlinge. Hamburg (Boysen) 1904.

Verf., dem eine 22jährige auf Reisen und als Pflanze in Zentralamerika, Ecuador, Trinidad, Venezuela und Ostindien gesammelte Erfahrung zur Seite steht, hat in dem vorliegenden Buch alles das zusammengestellt, was zur Kultur und Zubereitung (Fermentierung u. s. w.) des Kakao notwendig ist. Auf den ersten 97 Seiten umfassenden Teil, der alle bei der Anlage und dem Betriebe einer Kakaopflanzung zu berücksichtigenden Momente behandelt, kann hier nicht näher eingegangen werden.

Der zweite Teil enthält auf 49 Seiten das Wichtigste über die Schädlinge. Berücksichtigt sind von tierischen Feinden: Ratten und Eichhörnchen, *Glenea novemguttata*, *Cathoxantha gigantea*, *Steirastoma histrionicum* und *St. depressum*, Rüsselkäfer, *Zarathra cramerella*, Kakaomotte, *Zencera coffeae*, *Orthocraspeda trima*, *Physopus rubrocinctus*, *Helopeltis*, Rindenwanze, Ameisen und Läuse, Engerlinge, Einsiedlerkrebse. — Pflanzliche Schädlinge: *Phytophthora omnivora*, Baumkrebs (*Nectria* sp.), *Exoascus Theobromae*, *Diplodia cacaoicola*, *Loranthus* und Fadenalgen. Schon aus dieser Aufzählung sieht man, wie wenig die Krankheiten des Kakaobaumes bis jetzt erforscht sind und wie notwendig es ist, daß auf diesem Gebiete durch Untersuchung und Experiment gearbeitet wird.

Appel (Dahlem).

Eggers, Die Borkenkäfer des Großherzogtums Hessen. (Naturwissenschaftl. Zeitschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. 1904. p. 88.)

Verf. gibt eine eingehende faunistische Zusammenstellung der bisher im Großherzogtum Hessen gefundenen Borkenkäferarten, von welchen 67 Arten hervorgehoben, deren Fundorte genannt und zumeist mit biologischen Notizen begleitet werden. Infolge der geographischen Lage ließ es sich nicht umgehen, die nächste Umgebung Frankfurts und den Kreis Hanau als Bindeglied zwischen dem Großherzogtum Hessen und der Provinz Oberhessen miteinzubeziehen. In oben genannter Zusammenstellung sind die bisher nur im letzten Gebiete gefundenen Arten ohne Ziffer eingereiht.

Stift (Wien).

Fuchs, Gilbert, Die Borkenkäferfauna der bayerischen Hochebene und des Gebirges. (Naturwissenschaftl. Zeitschrift f. Land- u. Forstwirtschaft. 1904. p. 253.)

Wenngleich die Liste noch nicht vollständig ist, so weist sie doch schon eine ganz stattliche Anzahl Käferarten auf. Insgesamt werden sichere 62 Arten aufgezählt, und zwar in der Reihenfolge der Aufzählung nach der Bestimmungstabelle der Borkenkäfer von Reitter. Weiter werden auch einige Arten angeführt, deren Auftreten vermutet wird.

Stift (Wien).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Mokrzecki, S. A., Ueber die innere Therapie der Pflanzen. (Zeitschr. für Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 5. p. 257—265.)

Verf. weist auf die Unzulänglichkeit der äußerlich an erkrankten Pflanzen angewandten therapeutischen Mittel hin und begründet damit die Notwendigkeit der inneren Therapie erkrankter Pflanzen, die darin besteht, daß entweder in fester oder flüssiger Form teils Nährsalze in das Innere der Pflanze, teils auch Mittel gegen den die betreffende Krankheit eventuell hervorrufenden Parasiten injiziert werden. Wie weit dies, ohne den Pflanzen zu schaden, möglich ist, kann natürlich nur das Experiment lehren. So hat nach Angabe des Verfassers ein Einführen einer bestimmten Menge pulverisierten Eisenvitriols in den Stamm eines an Chlorose stark erkrankten Baumes schon nach wenigen Tagen ein vollständiges Ergrünen der Blätter, also ein Gesunden der Pflanze zur Folge gehabt. In wieweit durch dieses Mittel pilzliche Parasiten bekämpft werden können, müssen erst weitere Versuche lehren. Immerhin ist aber die Zuführung von Nährsalzen auf diese Weise für die Widerstandsfähigkeit der erkrankten Pflanze von hohem Werte.

H. Sydow (Berlin).

Aderhold, R. und Goethe, R., Der Krebs der Obstbäume und seine Behandlung. (Deutsche landwirtschaftliche Presse. 1903. p. 68—69.)

Gemeinverständliche Darstellung des Themas. Verff. führen außer dem echten Krebse, hervorgerufen durch *Nectria ditissima*, auch die anderen Krebskrankheiten, und geben kurz deren Ursache und Bekämpfungsmethoden an.

Matouschek (Reichenberg, Böhmen).

Vaney, C., et Conte, A., Utilisation des champignons entomophages pour la destruction des larves d'Altises. (C. R. Acad. Sc. Paris. T. CXXXVIII. 1904. p. 159.)

Einen wirksameren Feind der Larven von *Haltica ampelophaga* („altise“), als es die von den Verff. studierte *Degeeria funebris* ist, lernten sie in *Botrytis bassiana* kennen. *Degeeria funebris* ist nur in den erwachsenen Exemplaren von *Haltica* anzutreffen; *Botrytis bassiana* — welche die Muscardine der Seidenraupen hervorruft — gestattet, die Larven zu vertilgen. Sporen des Pilzes, die von infizierten Seidenraupen stammten, wurden auf Rebstockblättern ausgesät und an die *Haltica*-Larven verfüttert. Diese wurden von dem Pilz durchwuchert und gehen in der kürzesten Zeit zu Grunde.

Die praktische Verwendung der *Botrytis* zum Schutz der Rebstöcke dürfte sich für diejenigen Gegenden empfehlen, in welchen keine Seidenraupen kultiviert werden.

Küster (Halle a. S.).

Briem, H., Beobachtungen beim Fangen der Drahtwürmer. (Oesterreichisch-ungarische Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. 1904. p. 357.)

Zum Einfangen der Drahtwürmer benutzt man schon seit einigen Jahren Kartoffelstücke als Köder, wobei sehr gute Erfolge erzielt worden sind. Briem nimmt statt Kartoffeln Rüben, wie sie bei der Selektion im Frühjahr zu Tausenden ausgeschieden werden und zur Verfügung stehen. Diese Rüben wurden in längliche Stücke

zerschnitten und dieselben zwischen die Reihen der ausgepflanzten jungen Samenrüben eingesteckt. Die Drahtwürmer nisteten sich in kurzer Zeit massenhaft in die Rübenstücke ein oder hielten sich in unmittelbarer Nähe derselben auf. Die allerbesten Erfolge in kürzester Zeit gibt aber die Kombination einer Düngung mit Chilisalpeter mit der Auslegung von Rübenstücken als Köder. Es wurden hierbei ebenfalls die Rübenstücke zwischen die Rübenreihen gesteckt und zugleich die Samenrüben ringsherum mit Chilisalpeter bestreut. Da keine Aussicht auf Regen war, so wurden die Samenrüben mit Wasser begossen. Der Erfolg war ein unglaublicher, nachdem die ausgesteckten Rübenstücke voll von Drahtwürmern waren, während die Samenrüben vollständig verschont blieben. Das Verfahren ist natürlich auch bei einjährigen Rüben durchführbar, die gleichzeitig mit dem Auslegen der Köder eine Kopfdüngung mit Chilisalpeter erhalten.

Stift (Wien).

Briem, H., Sichere Bekämpfung der Blattläuse. (Centralblatt für die Zuckerindustrie. Jahrg. XII. 1904. p. 824.)

Das sicherste und sehr billige Bekämpfungsmittel der Blattläuse besteht in der Anwendung von dem in Oesterreich erzeugten und zu billigen Preisen in den Handel gebrachten Tabakextrakt. Dieser Extrakt ist eine dicke, braune Flüssigkeit, welche in Blechbüchsen von 1, 5 und 20 kg in den Handel gebracht wird, enthält 9—11 Proz. Nikotin; eine 5 kg-Büchse kostet gegen 7 M. Versuche, welche Verf. gegen Blattläuse auf Samenrüben angestellt hat, ergaben gegenüber unbespritzt gebliebenen Feldern einen Samen-ernteunterschied von 6—10 Doppelzentnern pro Hektar, bei einer Geldausgabe für Tabakextrakt und für Tagelohn des die Arbeit ausführenden Arbeiters von 1 M. Noch größer waren die Erfolge des Bespritzens in Hopfengärten, wo die Bespritzung einen Maximalertrag von 38 Ctr. pro Hektar erzielte, während auf den unbespritzten Feldern durch die Schäden der Blattläuse nur 9—12 Ctr. auf derselben Fläche geerntet wurden. Zur Herstellung der Brühe werden mindestens 2 kg Tabakextrakt mit 100 l Wasser versetzt, gut verrührt und dann wird die Mischung mittels einer Tornisterbaumspritze mit Handpumpwerk auf die Pflanzen gespritzt. Die Hauptsache dabei ist, daß die Flüssigkeit möglichst fein verstäubt wird, so daß dieselbe gewissermaßen als Dunstwolke Pflanzen und Blattläuse von allen Seiten umgibt. Davon hängt der Erfolg der Bespritzung, die zu jeder Tageszeit ausgeübt werden kann, ab.

Stift (Wien).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Abel, R., Taschenbuch für den bakteriologischen Praktikanten, enthaltend die wichtigsten technischen Detailvorschriften zur bakteriologischen Laboratoriumsarbeit. 8. Aufl. Würzburg. 8°. 2 M.

- Bokorny**, Einiges über die Pilze im Dienste von Gewerbe, Industrie und Landwirtschaft. (Naturw. Wehnschr. N. F. Bd. III. 1904. N. 48. p. 753—757.)
- Hefe, Gärung und Fäulnis. Sammlung der grundlegenden Arbeiten von Schwann, Cagniard-Latour und Kützing, sowie von Aufsätzen zur Geschichte der Theorie der Gärung und der Technologie der Gärungsgewerbe. Hrsg. v. M. Delbrück und A. Schrohe. Berlin. 8°. 6 Bildnisse u. 14 Fig. 6 M.
13. Jahresbericht des Sonderausschusses für Pflanzenschutz. 1903. Nach Mitteilungen folgender Inhaber von Auskunftsstellen für Pflanzenschutz: Brick, Edler, Gisevius u. a., der biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtschaft am k. Gesundheitsamt Berlin u. d. agrikulturbot. Anstalt München, sowie einer Anzahl von Landwirtschaftslehrern und Landwirtschaftsbeamten, bearb. v. Sorauer u. Reh. Arb. d. deutsch. Landwirtschafts-Ges. 1904. Heft 94. XXXIII, 250 p. 2 M.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Dreuw**, Vereinfachtes anaërobes Plattenverfahren. (Vorl. Mitt.) (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. N. 5. p. 748—749. 1 Fig.)
- Kern, Ferdinand**, Eine Verbesserung des Reichelschen Bakterienfilters. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. N. 5. p. 749—752. 1 Fig.)
- Lipschütz, B.**, Ueber einen einfachen Gonokokkennährboden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. N. 5. p. 743—747.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

- Acqua, Camillo**, Sullo Streptococcus bombycis Flüge, e sui rapporti con la vita del filugello. (Atti d. R. Accad. Lincei. Anno 301. 1904. Ser. 5. Rendiconti Vol. XIII. Fasc. 10. Sem. 1. p. 577—584.)
- Bodin**, Rôle des Bactéries, saprophytes et pathogènes. (Bull. loc. scientif. et méd. de l'Ouest. Rennes. Année XII. 1903. N. 3.)
- Bilts, Wilhelm**, Ein Versuch zur Deutung der Agglutinationvorgänge. (Nachr. v. d. k. Ges. d. Wiss. Göttingen. Math.-phys. Kl. 1904. Heft 2. p. 157—165.)
- Boekhout, F. W. J. und de Vries, J. J. Ott**, Ueber eine die Gelatine verflüssigende Milchsäurebakterie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 19/21. p. 587—590. 1 Fig.)
- Buchner, Eduard**, Zur Geschichte der Gärungstheorien. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 34. p. 507—510.)
- Daggeli, Max**, Die Bakterienflora gesunder Samen und daraus gezogener Keimpflänzchen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 19/21. p. 602—614.)
- Eberhardt, Albert**, Contribution à l'étude de Cystopus candidus Lév. (Suite.) (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 19/21. p. 614—631.)
- Fischer, E.**, Biologische Arten der parasitischen Pilze und Entstehung neuer Formen im Pflanzenreich. (Verh. d. Schweizer. Naturf. Ges. 86. Jahresvers. Locarno 2. bis 5. Sept. 1903. Zürich 1904.)
- Ford, J. S.**, Lintners lösliche Stärke und die Bestimmung der diastatischen Kraft. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 35. p. 525—530.)
- Gozio, B.**, Sulla decomposizione di sali di Selenio per opera dei microorganismi. (Rendic. Accad. dei Lincei. T. XIII. 1904. p. 642—645.)
- Gromow, T. und Grigoriew**, Die Arbeit der Zymase und der Endotryptase in den abgetöteten Hefezellen unter verschiedenen Verhältnissen. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. XLII. 1904. Heft 4. p. 299—329.)
- Hansen, Emil Chr.**, Grundlinien zur Systematik der Saccharomyceten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 19/21. p. 529—538.)
- Hasting, E. G.**, The action of various classes of bacteria on casein as shown by milk-agar plates. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 19/21. p. 590—597. 1 Taf.)
- Jägerskiöld, L. A.**, Scaphanocephalus expansus (Crepl.), eine genitalnapftragende Distomide. 1 Taf. u. 3 Fig. Results of the Swedish Zool. Expedit. to Egypt and the White Nile 1901. Uppsala. 16 S.
- Jancsó, Nikolaus**, Zur Frage der Infektion der Anopheles claviger mit Malaria-parasiten bei niedriger Temperatur. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. N. 5. p. 624—629.)
- Lasserre, J.**, Contribution à l'étude du genre Nocardia (g. Streptothrix Cohn); description d'une espèce nouvelle. Thèse de Toulouse. 1904. 8°.
- Lichtenheld, Georg**, Ueber die Fertilität und Sterilität der Echinokokken bei Rind, Schwein, Schaf und Pferd. [Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. N. 5. p. 651—662. 2 Taf.)

- Lutz, Adolf und Splendore, Alfonso**, Ueber Pebrine und verwandte Mikrosporidien. (Nachtrag zur ersten Mitteilung. Bd. XXXIII. N. 2. p. 150 ff.) (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. N. 5. p. 645—650. 2 Taf. u. 1 Fig.)
- Mencl, Em.**, Einige Beobachtungen über die Struktur und Sporenbildung bei symbiotischen Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 19/21. p. 559—574. 1 Taf.)
- Neide, Ernst**, Botanische Beschreibung einiger sporenbildenden Bakterien. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 19/21. p. 539—554. 3 Taf.)
- Neumann, P.**, Die Rentabilität der Milch- und Schwefelsäurehefe. (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXVII. 1903. N. 33. p. 339.)
- Nikolski, M.**, Ueber den Einfluß der Nahrung von verschiedenen Kohlenhydraten auf die Entwicklung der Schimmelpilze. 1. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 19/21. p. 554—559. 22 Fig.)
- Oudemans, A. C.**, Notes sur les Acariens Xe Serie. Parasitidae (vel Gamasidae) Thrombididae et Oribatidae d'Italie. (Mém. de la soc. zool. de France. Année 1903. T. XVI. 1904. P. 1/2. p. 5—31. 3 Taf.)
- Parisot, F.**, Traitement anti-cryptogamique des pommes de terre. (Journ. d'agricult. prat. N. Sér. T. VIII. 1904. N. 34. p. 234—235.)
- Pfreimbtner, J.**, Erfahrungen über das Löfflersche Infektionsverfahren zur Bekämpfung der Mäuseplage in einer neuen Art der Anwendung. (Fühlings landw. Ztg. Jg. LIII. 1904. Heft 16. p. 619—623.)
- Schidrowitz, Philipp**, Einige Experimente mit dem proteolytischen Enzym des Malzes. (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXVII. 1904. N. 34. p. 349. [Amerikan. Bierbrauer. 1903. N. 9—11].)
- Seifert, W. und Reisch, R.**, Zur Entstehung des Glycerins bei der alkoholischen Gärung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 19/21. p. 574—587.)
- Will, H.**, Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. Wachstumsform der vier Hefen aus festen Nährböden. [Forts.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 33. p. 587—590; N. 34. p. 607—609.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

- Adhémar de Lantagnac, d'**, Sur l'épuration bactérienne des eaux résiduaires. Thèse de Bordeaux 1904. 8°.
- Kolkwitz, R.**, Ueber Bau und Leben des Abwasserpilzes *Leptomitia lacteus*. (Ztschr. d. Ver. d. Dtschn Zuckerindustrie. Lief. 583. 1904. p. 955—977. 3 Fig.)

Nahrungs- und Genußmittel im Allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

- König, J.**, Zersetzung der pflanzlichen Futter- und Nahrungsmittel durch Bakterien. (Hannoversche Land- u. Forstw.-Ztg. Jg. LVII. 1904. N. 33. p. 627—630.)
- Micko, Karl**, Untersuchung von Fleisch-, Hefen- und anderen Extrakten auf Xanthinkörper. [Forts.] (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. VIII. 1904. Heft 4. p. 225—237.)

Milch, Molkerei.

- von Behring**, Tuberkulose tilgung, Milchkonservierung und Kälber-Aufzucht. [Vortrag.] (Milch-Ztg. Jg. XXXIII. 1904. N. 33. p. 518—519; N. 34. p. 535—536.)
- Mohler, Johann R.**, Tuberkelbacillen in der Milch. (Ztschr. f. Fleisch- und Milchhyg. Jg. XIV. 1904. Heft 12. p. 407—408.)
- Rogers, L. A.**, Ueber die Ursachen der bei in Büchsen verpackter Butter vorkommenden Zersetzungen. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 19/21. p. 597—602.)
- Tebb, W. Scott**, Formaldehyde in milk. (Lancet 1904. Vol. II. N. 9. p. 592—593.)

Bier, Brauerei.

- Bauer, Jakob, Reifenstuel u. Luff, P.**, Ueber die Filtration des Bieres. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 34. p. 601—607.)
- Schifferer, Anton**, Der Gärversuch. Ein Beitrag zum Ausbau der Malzanalyse. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 33. p. 585—587.)
- Schönfeld, F.**, Kritische Betrachtungen über Claussens Arbeit „Ueber Sarcinakrankheit des Bieres und deren Erreger“. (Wechschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 35. p. 520—523.)

Seyfert, H., Beitrag zur Frage der Herstellung englischer Biersorten. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 35. p. 519—520.)

Wein, Weinbereitung.

- Dalle, E.**, L'acidité des mouts de vendange. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 63. p. 249—250.)
- Desmoulins, A. M.**, La vinification par les levures sélectionnées. (Moniteur vinicole. Année XLIX. N. 61. p. 242.)
- , Préparation des vins blancs de raisins rouges. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 62. p. 245—246.)
- , La vinification par le sulfitage et le levurage. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 66. p. 262.)
- Fabre, L.**, Traitement des vins tournés. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 65. p. 258.)
- Guillemin, F.**, Remarques personnelles et expériences faites sur la pyrale pendant l'année 1904. (Vigne américaine. Année XXVIII. 1904. N. 8. p. 244—250.)
- Plot, E.**, La réfrigération de la vendange. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 65. p. 258.)
- Rosenstiehl, A.**, Ueber die Gegenwart von Lecithin im Weine. (Centralbl. f. inn. Med. Jg. XXV. 1904. N. 34. p. 857—862.)
- Vincent, Emile**, Concentration des mouts. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 64. p. 254.)
- , Le refroidissement des mouts. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 66. p. 262.)

Wohnungen. Abfallstoffe etc.

- Görbing, J.**, Einige Versuche über die Desinfektionswirkung des Saprol. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. N. 5. p. 731—741. 2 Fig.)
- Schmidt, Rud.**, Ueber die unschädliche Beseitigung und Desinfektion des Düngers der Schlachthöfe und Viehhöfe. (Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. Bd. XXX. 1904. Heft 6. p. 531—566.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

- Appel**, Ueber bestandweises Absterben von Roterlen. [Vorl. Mitt.] (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jg. II. 1904. Heft 8. p. 313—320. 3 Fig.)
- Brandt**, Die Kiefernblattwespe (*Lophyrus pini*). (Hannoversche Land- u. Forstw. Ztg. Jg. LVII. 1904. N. 33. p. 626—627.)
- Brzeziński, J.**, Einige Bemerkungen über die Krebs- und die Gummikrankheit der Obstbäume. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 19/21. p. 632—639. Hierzu Erwiderung von Aderhold p. 639—640.)
- Grimm, Arthur M.**, Rost am Roggen. (Wiener landw. Ztg. Jg. LIV. 1904. N. 61. p. 558.)
- Kirby, W. F.**, A formidable enemy to the cotton plant. (Nature, London 1904. Vol. LXIX. N. 1795. p. 499—500.)
- Köck, G.**, Der Weizenmehltau (*Erysiphe graminis*) auf Gerstenpflanzen. (Wiener landw. Ztg. Jg. LIV. 1904. N. 62. p. 568.)
- , Eine neue Rostgefahr für den Roggen. (Wiener landw. Ztg. Jg. LIV. 1904. N. 64. p. 585. 7 Fig.)
- Le phylloxéra en France. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 65. p. 257.)
- Lesne, Pierre**, Nouvelles observations sur les mœurs de la mouche de l'asperge. (Journ. de l'agric. prat. Année LXVIII. 1904. N. 32. p. 172—173. 6 Fig.)

Inhalt.

Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

Gesellschaft Amerikanischer Bakteriologen, p. 225.

Gorham, F. G., Die lichterzeugenden Bakterien, p. 227.

Robin, A., Ein Versuch zur Erzie-

lung gleichförmig zusammengesetzter Nährstoffe für Medien, p. 228.

Sawin, L. E., Eine neue Art und Weise, um Gärungsröhren aufzubewahren, p. 225.

Winslow, C. E. A. und **Belcher, D. M.**, Veränderungen in der Bak-

terienflora von Abwässern während der Lagerung, p. 226.

Referate.

- Atkinson, Geo. F.**, The genus *Harpochytrium* in the United States, p. 238.
Blasdale, W. C., On a rust of the cultivated snapdragon, p. 243.
Barteletti, V., Sopra una particolare alterazione della corteccia di *Pterospermum platanifolium*, p. 249.
Cieslar, Adolf, Waldbauliche Studien über die Lärche, p. 248.
Desmots, Production de l'acétylméthylcarbinol par les bactéries du groupe du *Bacillus mesentericus*, p. 229.
Dietel, P., Bemerkungen über die Uredineengattung *Zaghouania* Pat., p. 241.
 —, Ueber die auf Leguminosen lebenden Rostpilze und die Verwandtschaftsverhältnisse der Gattungen der Pucciniaceen, p. 242.
 —, Ueber die Teleutosporenform von *Uredo laeviuscula* D. et H. und über *Melampsora Fagi* D. et Neg., p. 242.
Eggers, Die Borkenkäfer des Großherzogtums Hessen, p. 250.
Fritsch, E. F., Two fungi parasitic on species of *Tolypothrix* [*Reticularia nodosa* Dang. and *R. Boodlei* n. sp.], p. 235.
Fuchs, Gilbert, Die Borkenkäferfauna der bayerischen Hochebene und des Gebirges, p. 250.
Heinze, B. und Cohn, E., Ueber milchzuckervergärende Sproßpilze, p. 231.
Kindt, Ludwig, Die Kultur des Kakao-baumes und seine Schädlinge, p. 250.
Koning, C. J., Brydrage tot de kennis van het leven der humicole fungi en van de scheikundige processen welke by de humificatie plaats hebben, p. 234.
Kossel, A. und Dakin, H. D., Ueber die Arginase, p. 230.
Krause, P., Untersuchungen einiger Dauerhefepräparate des Handels, mit besonderer Berücksichtigung ihrer biologischen Eigenschaften und therapeutischen Verwertbarkeit, p. 233.
Laubert, R., Eine neue sehr verbreitete Blattfleckenkrankheit von *Ribes alpinum*, p. 249.
Maire, R., Recherches cytologiques sur le *Galactinia succosa*, p. 236.
 —, Remarques taxonomiques et cytologiques sur le *Botryosporium pulchellum*, p. 237.
Matruchot, L. et Molliard, M., Sur le *Phytophthora infestans*, p. 239.
Micko, K., Untersuchung von Fleisch-, Hefen- und anderen Extrakten auf

Xanthinkörper. 2. Die Xanthinkörper der Hefenextrakte, p. 233.

- Nakayama, M.**, Ueber das Erepsin, p. 231.
Peglion, V., La nebbia (early blight) delle patate, *Alternaria Solani*, p. 239.
Petersen, H. E., Note sur les Phycomyces observés dans les téguments vides des nymphes de Phryganées, avec description de trois espèces nouvelles de Chytridinées, p. 235.
Petri, L., La formazione delle spore in *Naucoria nana* n. sp., p. 240.
 —, Ricerche sul significato morfologico e fisiologico dei prosperoidi (sporangio di Janre) nelle micorrize endotrofiche, p. 240.
Rose, Otto, Der Flugbrand der Sommergetreidesaaten und Maßnahmen zur Bekämpfung dieses Pilzes in der landwirtschaftlichen Praxis, p. 243.
Salmon, E. S., Ueber die zunehmende Ausbreitung des amerikanischen Stachelbeer-Mehltaus (*Sphaerotheca mors uvae* [Schwein.] Berk. et Curt.) in Europa, p. 245.
 —, On specialisation of parasitism in the Erysiphaceae, p. 245.
 —, Cultural experiments with „Biologic Forms“ of the Erysiphaceae, p. 246.
 —, Cultural experiments with the Barley mildew, *Erysiphe graminis* D C., p. 247.
Shibata, K., Ueber das Vorkommen von Amide spaltenden Enzymen bei Pilzen, p. 230.
Thaxter, Roland, New or peculiar North American Hyphomycetes. III, p. 236.
Thiele, R., Die Vorgänge bei der Zersetzung und Gerinnung der Milch, p. 234.
Voglino, P., Sul parasitismo e lo sviluppo dello *Sclerotium cepivorum* Berk. sull' *Allium sativum* L., p. 239.
Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.
Aderhold, E. und Goethe, E., Der Krebs der Obstbäume und seine Behandlung, p. 251.
Briem, H., Beobachtungen beim Fangen der Drahtwürmer, p. 251.
 —, Sichere Bekämpfung der Blattläuse, p. 252.
Mokrzecki, S. A., Ueber die innere Therapie der Pflanzen, p. 250.
Vaney, C. et Conte, A., Utilisation des champignons entomophages pour la destruction des larves d'Altises, p. 251.

Neue Litteratur, p. 252.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D.C., U.S.A., Prof.
Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr.
Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W.50, Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XIII. Band.

Jena, den 21. Oktober 1904.

No. 9/11.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Ueber Aenderungen der Farben bei Pilzen und Bakterien.

Von **Thomas Milburn.**

Mit 2 Tafeln und 6 Figuren im Text.

(Schluß.)

Analog den früheren Versuchsreihen, wurde auch in diesem Zusammenhange versucht, den Pflaumensaft, dessen chemische Zusammensetzung wechselt und nicht genau genug bekannt ist, zu ersetzen durch Nährmaterialien von einfacher und völlig bekannter Zusammensetzung. Die folgende Tabelle berichtet über Versuche, die mit Agar + Knop-Lösung + Traubenzucker, letzterer in wechselnder Menge, angestellt wurden:

Zweite Abt. Bd. XIII.

17

Tabelle 8.
Weitere Versuche mit Traubenzucker.

No.	Zusatz	Bemerkungen
1	Traubenzucker 5 Proz.	Fruktifikation grün
2	" 10 "	" beinahe gänzlich weiss
3	" 15 "	" gänzlich weiß (s. Fig. 4a)
4	" 20 "	
5	" 25 "	
6	" 30 "	wenig Konidien gebildet. Wachstum langsam (s. Fig. 4b)
7	" 35 "	geringeres Wachstum, keine Fruktifikation.
8	" 40 "	

Auch auf diese Weise lassen sich also völlig weiße Konidien erzielen, die ebenso keimfähig sind wie die grünen oder gelben. So wie früher, wird durch hinreichend hohe Konzentration auch das vegetative Wachstum beeinflusst; bei 30 Proz. Traubenzucker-gehalt (vergl. Fig. 4b) ist das Wachstum erheblich langsamer als etwa bei 20–25 Proz. (Fig. 4a), die Fruktifikation bleibt bei jener fast ganz aus und es fehlen bei ihr (Fig. 4b) auch die konzentrischen Ringe der Konidiengruppen, die bei Kulturen mit geringerer Konzentration so auffallend werden können (Fig. 4a).

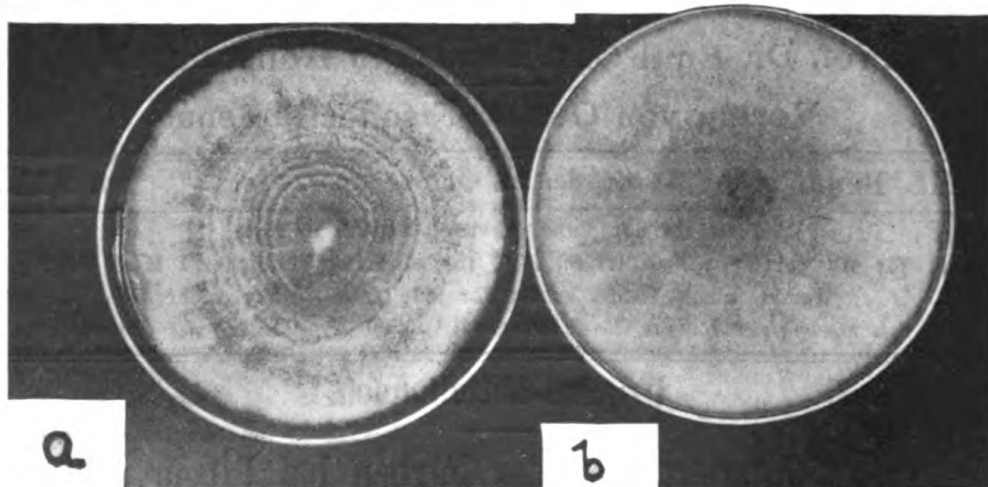


Fig. 4a u. b. *Hypocrea rufa* bei verschiedener Konzentration von Glukose. a bei 20 Proz. mit weißer Konidienbildung in Ringen, b bei 30 Proz. keine Konidienbildung.

Einige Versuche, bei welchen das Nährmedium, außer Knops Salzgemisch, Traubenzucker und Kochsalz gleichzeitig enthielt, brachten nichts wesentlich Neues; auch bei ihnen ließ sich durch hinreichend hohe Konzentration weiße Konidienbildung erreichen.

Schließlich verweise ich noch auf einige Versuche mit Kaliumnitrat, Galaktose, Laktose, Maltose und Saccharose. Das Wachstum auf ihnen war nicht befriedigend und die Konidienfarbe bald mehr grün, bald mehr weiß. Auch habe ich versucht, mit einem Boden,

der unter gewöhnlichen Bedingungen gelbe Konidien liefert (s. Tab. 6) durch Zusatz von Kochsalz farblose Sporen zu erzielen, das Resultat war aber negativ.

Kulturen mit weißen Konidien wurden während 6 und solche mit gelben Konidien während 16 Generationen fortgezüchtet. Um zu bestimmen, ob eine Nachwirkung auf die Farbbildung stattfindet, wurden dann die Konidien auf Agar + 40 Proz. Pflaumensaft geimpft, sie lieferten aber sofort — die weißen wie die gelben Konidien — Mycelium mit grüner Fruktifikation.

Unsere Versuche zeigen klar, daß der osmotische Druck einen großen Einfluß auf die Bildung und die Farbe der Konidien hat, da wir nach Belieben durch wechselnde Konzentrationen des Nährbodens farbige und farblose (weiße) Konidien erzielen können; gleichgültig ist dabei, ob wir Traubenzucker oder Chlornatrium oder beide zugleich zur Anwendung bringen, da hier nicht die chemische Zusammensetzung des Stoffes, sondern lediglich der osmotische Druck seiner Lösung wesentlich ist.

3. Einfluß des Wachstums von *Hypocrea rufa* auf die Reaktion des Nährbodens.

Wie bekannt, werden durch Pilze, Bakterien u. s. w. in ihrem Nährsubstrat mannigfaltige chemische Umsetzungen hervorgerufen; es werden dabei nicht nur von verschiedenen Organismen verschiedene Stoffe ausgeschieden und verschiedene Aenderungen der ihnen dargebotenen Substanzen veranlaßt, sondern auch von Individuen der gleichen Spezies können ungleichartige Veränderungen bewirkt werden, je nach den äußeren Bedingungen, unter deren Wirkung sie stehen.

Die verschiedenen Kulturen von *Hypocrea rufa* unterschieden sich ebenso auffällig wie durch ihre Farbe, auch durch den Geruch. Die meisten von den grünen Kulturen hatten einen angenehmen Geruch, die gelben dagegen einen unangenehmen. Es wurde die Reaktion vieler Kulturen auf Lackmuspapier geprüft, und es fand sich ohne Ausnahme, daß bei den grünen Kulturen die Reaktion stets sauer, bei den gelben alkalisch ausfiel. Stücke von rotem feuchten Lackmuspapier wurden über das Mycelium einer jeden Kultur gehängt, derart, daß sie nicht in Berührung mit ihm innerhalb des Kulturgefäßes kamen. In den grünen Kulturen blieb das Papier unverändert, in den gelben wurde es stets nach Verlauf von 1—2 Stunden blau. Es mußte also irgend ein leicht flüchtiges, alkalisches Gas als Spaltungsprodukt in der Kultur frei geworden sein, wahrscheinlich ein Amin. Diese Beobachtung führt uns zu folgenden Fragen:

- a) Bewirken die genannten Produkte eine Veränderung in der Reaktion des Nährbodens?
- b) Haben sie einen Einfluß auf die Produktion und Farbe der Konidien?
- c) Wenn letzteres der Fall ist, können die Produkte neutralisiert und damit ihre Wirkung ausgeschlossen werden?

Um diese Fragen zu entscheiden, wurde eine Reihe von Kulturen im Hellen und im Dunkeln angesetzt, bei welchen dem sauren Nährboden einige Tropfen konzentrierter Lackmuslösung zugesetzt wurden.

Tabelle 9.

Zeigt Alkalibildung von dem Pepton und ihre Wirkung auf die Farbe der Konidien.

	No.	Nährboden	Reaktion		Farbe der Konidien
			wenn geimpft	zur Zeit der Konidienbildung	
im Licht	1	Agar + Pflaumensaft 40 Proz.	sauer	sauer	grün
	2	" + Traubenzucker 5,0 "	"	"	"
	3	" + Knop 0,5 "	"	"	"
	4	" + Pepton 2,0 "	"	alkalisch	gelb
im Dunkel	1	" + Knop 0,5 "	"	"	"
	2	" + Pepton 2,0 "	"	"	"
	3	" + Phosphorsäure 1,0 "	"	"	"
	4	" + Phosphorsäure 1,0 "	"	"	"
	1	Derselbe wie No. 1	"	sauer	keine gebildet
	2	" " " 2	"	"	"
	3	" " " 3	"	alkalisch	"
	4	" " " 4	"	"	"

Wir sehen, daß im Dunkeln niemals Konidien gebildet werden (aber siehe später); ohne Einfluß dagegen schien Licht und Dunkelheit auf die Reaktion des Nährsubstrates zu sein. Wir sehen ferner, daß in den peptonhaltigen Kulturen ein Umschlag der sauren Reaktion in die alkalische eingetreten war, und daß hier gelbe Konidien sich bildeten. Das Experiment wurde mit Kongorot als Indikator wiederholt, das Resultat war das gleiche.

Auf einige der genannten Resultate ist im folgenden noch etwas näher einzugehen:

Bei No. 3 und 4 wurde eine Veränderung in der Reaktion des Nährbodens erst zu der Zeit der Konidienbildung bemerkt, d. h. 3—4 Tage nach der Impfung. Es hatte den Anschein, daß die alkalische Substanz erst zur Zeit der Sporenbildung und nicht während des vorangegangenen vegetativen Wachstums ausgeschieden worden war. Um diesen Punkt zu entscheiden, wurden ungefähr 2 ccm von einem ähnlichen Nährboden in ein Reagenzglas gegossen, sterilisiert, und nach Zusatz von Lakmus in schiefer Lage zum Erstarren gebracht. Auf diese Weise erhielt ich eine große Oberfläche für das Wachstum mit einem Minimum von Nährboden. Dieser wurde, um ein ergiebiges Wachstum zu sichern, mit einer großen Quantität von Sporen geimpft, 24 Stunden nach der Impfung war eine Veränderung in der Farbe deutlich sichtbar. Es waren also bereits in den früheren Stadien des vegetativen Wachstums alkalische Substanzen ausgeschieden, und nicht erst zur Zeit der Konidienbildung. In den großen Kulturen wird die Reaktion durch die große Masse des Nährbodens, welcher zu neutralisieren ist, und die verhältnismäßig kleine Oberfläche des Myceliums auf-

gehalten. Bei No. 1, 2, 5 und 6 ergab sich kein Wechsel in der Reaktion. Es war also entweder kein Alkali ausgeschieden oder nicht in genügender Menge, um die im Nährboden vorhandene Säure zu neutralisieren. Aufschluß hierüber gaben einige Kulturen, deren Nährboden vor dem Impfen durch Zusatz einiger Tropfen konzentrierter Sodalösung schwach alkalisch gemacht worden war. Nach 24—30 Stunden machte sich in jedem Falle unter dem Mycelium Rötung des Nährbodens bemerkbar, es war also (wahrscheinlich durch Oxydation der Kohlehydrate) Säurebildung eingetreten.

Wir sehen hieraus, daß in einigen Kulturen, z. B. solchen, die eine reichliche Menge von Kohlehydraten enthalten, Säure gebildet wird, und in anderen, die überwiegende Mengen von Pepton enthalten, alkalische Substanzen. Offenbar werden in allen Kulturen gleichzeitig saure und alkalische Stoffe von dem Pilz gebildet. Die Reaktion nach dem Wachstum hängt ab von den relativen Verhältnissen der Kohlehydrate und Stickstoffsubstanzen, welche im Nährboden enthalten sind, und von dem Gehalte des Nährbodens an Säuren und Alkalien vor der Impfung.

Sommaruga¹⁾ fand, daß eine große Anzahl von Bakterien auf einem Nährboden, der Glycerin enthält, so viel Säure bildet — durch Spaltung des Glycerins —, daß die alkalischen Produkte, die sonst vorhanden sind, neutralisiert werden, und daß die Reaktion des Mediums zuletzt sauer ist. Burri²⁾ bestätigt seine Ergebnisse. Smith³⁾ beobachtete ebenfalls die gleichzeitige Bildung von Säure und alkalischen Stoffwechselprodukten aus zwei verschiedenen Substanzen des Nährbodens.

4. Einfluß der Reaktion des Mediums auf die Farbe und die Sporenbildung.

Wie bei den Pilzen im allgemeinen, ist auch bei *Hypocrea rufa* saure Reaktion des Nährbodens für das Wachstum vorteilhafter als alkalische; sie kann ohne erkennbaren Nachteil eine beträchtliche Menge von Säure ertragen.

Werfen wir einen Blick auf die Tabelle des letzten Kapitels, so sehen wir, daß die Kulturen mit grüner Fruktifikation eine saure Reaktion haben, und diejenigen mit gelber Fruktifikation eine alkalische. Derselbe Unterschied in der Reaktion des Mediums kam auch bei anderen Kulturen zum Ausdruck. Schon die vergleichende Betrachtung macht es wahrscheinlich, daß zwischen der Reaktion des Mediums und der Farbe der Sporen ursächliche Beziehungen bestehen und daß es gelingen wird, durch Veränderung der Reaktion einen Wechsel in der Farbe hervorzubringen.

Zur Prüfung dieser Vermutungen wurden folgende Kulturen angestellt:

- a) Agar + Pflaumensaft + 40 Proz. (Fruktifikation grün);

1) Flüge, Die Mikroorganismen. Bd. I. p. 179.

2) Ibid.

3) Ibid.

b) Agar + Pepton 2 Proz. + Knop 0,5 Proz. (Fruktifikation gelb).

Als im Zentrum der Petri-Schalen die Sporenbildung begann, wurden Stücke von Agar (2 qcm) mit Mycelium von den Randpartieen ausgeschnitten und in folgende Lösungen gebracht:

Tabelle 10.

Wirkungen von Säuren und kohlensaurem Natron auf die Farbe der Konidien.

No.	Lösung				Farbe der Konidien	
					Stücke von a	Stücke von b
1	Wasser					
2	Salzsäure	1,0	Proz.	(normal)	} grün	} grün
3	Salpetersäure	1,0	"	(")		
4	Phosphorsäure	1,0	"	(")		
5	Kohlens. Natron	0,5	"	(")		
6	"	1,0	"	(")	vorwiegend gelb	vorwiegend gelb
7	"	1,5	"	(")	gelb	gelb
8	"	2,0	"	(")	keine Fruktifikation	keine Fruktifikation.

Aus dieser Tabelle ersehen wir, daß die in Säure übertragenen Mycelstücke der a-Kulturen Sporen wie in der Originalkultur bilden; in den alkalischen Lösungen bilden sie gelbe Konidien. Die von den gelben b-Kulturen stammenden Mycelstücke bringen den gelben Farbstoff nur in den alkalischen Lösungen hervor, im Wasser und in Säuren werden die Konidien grün. Es ist somit auch nach verschiedener Vorbehandlung des Mycelmaterials die Farbe der Sporen durchaus bestimmbar durch die Reaktion des Nährbodens.

Entsprechende Resultate wurden durch folgende Versuche gewonnen: Anstatt die Kulturen durch Ausschneiden von Mycelstücken in ihrer Entwicklung zu stören, wurde versucht, durch Aufstreuen bestimmter Chemikalien die Reaktion des Nährbodens und damit die Farbe der Sporen zu verändern.

Von Petri-Schalenskulturen auf Agar + Pepton 2 Proz. + Knop 0,5 Proz. wurde zur Zeit der Sporenbildung (gelb) die Hälfte der Schalen mit folgenden sauren Stoffen bestreut¹⁾:

Tabelle 11.

Wirkungen durch Bestreuung mit sauren organischen Substanzen auf die Farbe der Konidien.

No.	Zusatz	Farbe der Konidien	
		1/2, unbestreut	1/2, bestreut
1	Weinsteinsäure	gelb	grün
2	Kalium bimalicum	"	"
3	Calcium bimalicum	"	"
4	Harnsäure	"	gelb mit grünen Flecken

1) Um möglichst scharfrandige Bilder zu erzielen, wurde beim Aufstreuen der Salze auf die Kulturschalen ein entsprechend ausgeschnittenes Stück Pappe aufgelegt.

Die Veränderung in der Farbe der Konidien begann 10—12 Stunden nach dem Aufstreuen sichtbar zu werden; nach 1—2 Tagen waren die bestreuten Teile der Kulturen ganz dunkelgrün. Weinstein gab das beste Resultat, da er langsam in Lösung ging und die Säurewirkung nicht zu stark war (s. kol. Fig. B). No. 4 war zu schwer löslich und gab daher nur an den dick bestreuten Stellen brauchbare Resultate.

Analoge Versuche wurden weiterhin mit alkalischen Substanzen angestellt; Agar + Pflaumsaft 40 Proz. wurden in der oben erklärten Weise, zur Zeit der Sporenbildung (grün) mit folgenden Substanzen bestreut: Gebranntes Magnesium, kohlensaures Calcium, doppelkohlensaures Natron. Bei der filzigen Beschaffenheit des Myceliums blieben die zwei zuerst genannten Salze ungelöst auf der Oberfläche des Mycel liegen und übten daher keine Wirkung auf die Farbe aus. Das doppelkohlensaure Natron dagegen löste sich schnell und seine Alkaleszenz brachte das Wachstum zum Stillstand, ein geringer Einfluß auf die Farbe war immerhin sichtbar; die Kultur wurde gelbgrün. Um Magnesiumoxyd und kohlensaures Calcium besser zur Wirkung zu bringen, war es notwendig, einen Nährboden zu finden, der das Wachstum des Myceliums möglichst zurückhielt, ohne die Sporenbildung zu unterdrücken, damit die Substanzen mit dem Agar in Berührung kommen und sich in ihm lösen können. Kulturen auf Agar + Pepton 0,25 Proz. + H_3PO_4 2 Proz. (normal) gaben die gewünschten Resultate: Magnesiumoxyd führt an den bestreuten Stellen zur Bildung von Konidien mit gelber Farbe; die unbestreuten Stellen blieben grün. Das kohlensaure Calcium ergab ähnliche Resultate, doch war das Gelb etwas mit Grün gemischt.

Weiterhin wurden mit flüchtigen Substanzen Versuche angestellt: Kulturen auf dem üblichen Nährboden wurden zusammen mit einer Schale, die Ammoniak enthielt, unter eine Glasglocke gestellt; die Sporen fielen gelblich-weiß aus, in den ammoniakfreien Kontrollversuchen grün. Umgekehrt ließ sich die grüne Farbe durch verdünntes Essigsäuregas hervorrufen an Kulturen, die ohne diese Behandlung gelbe Konidien gebildet haben würden. Kulturen, welche unter gewöhnlichen Umständen gelbe Konidien bilden (s. Tabelle 6), wurden ungefähr am 5. Tage nach der Impfung in geschlossene Kammern, die etwas verdünnte Essigsäure enthielten, gelegt. 2 Tage nach Beginn des Versuches war die Hauptmasse grün, hier und da waren einige Flecken gelb geblieben. Wir sehen also, daß durch saure und alkalische Stoffe der verschiedensten Art, die Farbe der Sporen beeinflusst werden kann¹⁾. Uebrigens kommt der Einfluß der Reaktion auf die Farbe nur während der Bildung der Konidien zur Geltung. Einmal gebildete Sporen ändern ihre Farbe nicht mehr; grüne Konidien können daher auf keine Weise in gelbe umgewandelt

1) An dieser Stelle möchte ich erwähnen, daß mir Herr Dr. Kruger eine *Penicillium*-Art, welche er von dem afrikanischen Zuckerrohr isolierte, freundlichst zur Verfügung stellte. Dieser Pilz bildet in seinem Mycelium einen blutroten Farbstoff, aber stets nur auf saurem Nährboden.

werden, ebensowenig gelbe in grüne u. s. w. Die Veränderung der Farbe bei einem Wechsel der Reaktion ist dementsprechend keine momentane, sondern tritt erst im Verlaufe fortgesetzter Sporenbildung auf, so daß sie gegen 12 Stunden nach der Versuchsanstellung erkennbar zu werden anfängt.

5. Einfluß anderer Bedingungen.

a) Sauerstoff.

Reichliche Sauerstoffzufuhr ist in allen Fällen für die Erzeugung von Konidien günstig, besonders bei gut ernährten Kulturen. Die Menge des zugelassenen Sauerstoffes ist somit auch für die Produktion des Farbstoffes von Einfluß. Kulturen von Agar + Pflaumensaft 40 Proz. zeigten selbst nach 3–4 Wochen keine Sporenbildung im Dunkeln, aber wenn man den Deckel der Petri-Schale täglich einige Minuten lüftete, trat Sporenbildung ein. Ebenso verhielten sich Kulturen auf Agar + Traubenzucker 5 Proz. + Knop 0,5 Proz.; bringt man sie in das diffuse Licht eines Zimmers, so tritt im Verlaufe von 2–3 Tagen Konidienbildung ein (s. Fig. 5).

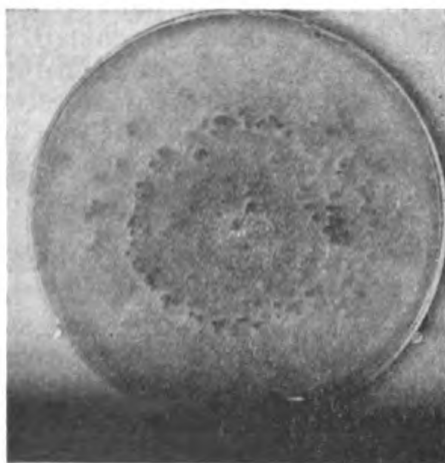


Fig. 5. *Hypocrea rufa*. Kultur auf Glukose und Knop, seit 2 Wochen im Dunkeln ohne Fruktifikation, dann hell gestellt, in 2–3 Tagen Anfang der Konidienbildung zeigend.

Vermutlich unter dem Einflusse des Lichtes nehmen irgendwelche Oxydationsprozesse in den Zellen des Mycels energischeren Verlauf als bei Lichtabschluß, so daß die im Dunkeln hemmend wirkenden Stoffwechselprodukte zerstört wurden.

Läßt man den Pilz auf Agar + Pepton 2 Proz. + Traubenzucker 6 Proz. + Weinsteinsäure 0,23 Proz. wachsen, so tritt auch im Lichte keine Sporenbildung ein; wird ein solches filziges Mycel mit einem sterilisierten Messer geschnitten, so tritt Sporenbildung an den Einschnitten auf, zweifellos infolge der besseren Durchlüftung an den Schnittstellen (s. Fig. 6). Wenn man Stücke

von neutralem Agar mit sporentragendem Mycel ausschneidet, so bekommt man dichte, kräftige, grün gefärbte Sporenlager an den Schnittträgern. Hieraus geht hervor, daß reichliche Zufuhr von Sauerstoff für die Bildung grüner Konidien günstig ist. Weiterhin wurde der Einfluß verringerten Luftdruckes geprüft. Kulturen von Agar + 40 Proz. Pflaumensaft wurden, ungefähr zur Zeit der Konidienbildung, unter einer Glasglocke bei einem Drucke von 2 mm Hg kultiviert. Das Wachstum war nur sehr spärlich, die Sporenbildung blieb ganz aus. Nach

2 Wochen wurde Luft in die Glocke gelassen; nach 1—2 Tagen ließ sich Wachstum und Konidienbildung konstatieren.

Kulturen, die bei gewöhnlichem Zimmerlicht gelbe Sporen entwickelten (s. Tabelle 6), bildeten nach Verbringung in direktes Sonnenlicht auch grüne Konidien. Wir haben es hierbei mit einer indirekten Wirkung des Lichtes zu tun; durch Steigerung der Transpiration und des Gaswechsels werden die alkalisch reagierenden Stoffwechselprodukte oxydiert und im Substrat teilweise oder ganz eine saure Reaktion herbeigeführt.



Fig. 6. *Hypocrea rufa*. Kultur auf Pepton, Glukose und Weinsäure, im Licht ohne Fruktifikation; dann eingeschnitten, längs der Einschnitte grüne Konidienbildung.

b) Licht und Feuchtigkeit.

Licht wirkt, wie wir soeben gesehen haben, indirekt auf die Sporenbildung: Im Dunkeln wird in gut schließenden, schlecht durchlüfteten Kulturschalen die Sporenbildung zumeist völlig gehemmt. Sie läßt sich aber auch im Dunkeln ohne besonders reichliche Sauerstoffzufuhr dann erzielen, wenn man den Pilz auf schwach konzentrierten oder sehr nährstoffarmen Nährböden — Agar + 1 Proz. Pflaumensaft oder Agar allein — kultiviert. Von einem direkten Einfluß des Lichtes auf die Sporenbildung ließ sich nichts erkennen. In den genannten Fällen ist der maßgebende Faktor stets der Sauerstoff. Auch die

Beobachtungen an nährstoffarmen Nährböden lassen sich in entsprechender Weise erklären; in ihnen wird die Anhäufung nicht oxydierter Stoffwechselprodukte ebenso verhindert, wie bei guter Durchlüftung gut ernährten Materials.

c) Temperatur.

Die Temperatur hat, wie zu erwarten, einen Einfluß auf die Schnelligkeit des Wachstums und der Konidienbildung; ein Einfluß auf die Farbe der Konidien ließ sich nicht nachweisen. Die Maximaltemperatur für das Wachstum ist höher und das Minimum niedriger als für die Konidienbildung. Für das Wachstum:

Maximum	ungefähr 30° C
Optimum	20—24° „
Minimum	0—4° „

Teil II.

1. Ausscheidung von Wasser. Quantitative Bestimmung von Säure im Nährboden.

In Tropfenkulturen von *Hypocrea rufa* wurden ungefähr am 4. Tage nach der Impfung kleine Wassertropfen auf dem Mycel ausgeschieden, die sich allmählich vergrößerten und in den großen Kulturen dem bloßen Auge sichtbar wurden. Zopf¹⁾ beobachtete solche Wasserausscheidungen bei *Mucor*, *Pilobolus*, *Penicillium* etc. Nach ihm handelt es sich nie um reines Wasser, sondern um irgendwelche Lösungen von wechselnder Zusammensetzung; bei *Mucor* und *Sclerotinia* liegt eine Säure vor, bei den Konidienformen von *Claviceps purpurea* Zuckerlösung u. s. w.

Wir haben gesehen, daß in gewissen Nährböden viel Säure bei *Hypocrea rufa* gebildet wird, es war daher zu vermuten, daß die ausgeschiedenen Tropfen Säure enthielten. Die Vermutung ließ sich leicht bestätigen. Wir geben weiter unten eine Tabelle, welche die Menge der gebildeten Säure angibt; der Säuregehalt ist in Prozenten der Normallösung ausgedrückt. Die Zahlen sind nur approximativ zu verstehen:

Tabelle 12.
Säurebildung.

No.	Nährlösung	Tages- wachstum	Säuregehalt		
			wenn geimpft	im Licht	im Dunkeln
1	Pflaumensaft 40 Proz.	20	1,5	10,10	12,50
2	„ 40 „	25	1,4	11,04	13,08
3	„ 40 „	25	1,2	8,20	11,10
4	Pepton 1 Proz., Glukose 5 Proz.	16	0,4	8,80	10,20

1) Zopf, Die Pilze. 1890. p. 186.

Man beachte in der Tabelle den starken Säuregehalt, der bei Licht wie im Dunkeln entsteht; bei Lichtabschluß ist die Säureproduktion noch reichlicher. Wehmer¹⁾ fand, daß *Aspergillus niger* im Dunkeln besonders reichlich Säure bildet. Aehnlich verhalten sich die *Crassulaceen*. No. 1—4 zeigten spärlichen grünen Sporenbelag. Bei schwachem Licht auf 40 Proz. Pflaumsaftlösung gezüchtet, entwickelte der Pilz weiße Konidien; wir werden ihre Farblosigkeit auf den Einfluß des Lichtmangels und den hohen osmotischen Druck der vom Pilz produzierten Säure zurückzuführen haben. Die vom Pilz gelieferten Säuren sind vermutlich verschiedener Art. Oxalsäure ließ sich (nach Wehmers Methode) nicht nachweisen.

2. Löslichkeit der Farbstoffe.

Der grüne Farbstoff ist unlöslich in folgenden Substanzen: Salzsäure, Salpetersäure, Schwefelsäure und Phosphorsäure, Formol, Aether, Benzin, Terpentin, Ligroin, Aceton, Essigsäure und Bleiessig, Methyl-, Propyl- und Amylalkohol, Glycerin und Chloroform. Die Stoffe wurden heiß und kalt, konzentriert und verdünnt in Anwendung gebracht. Der gelbe Farbstoff war in absolutem Alkohol schwer löslich. In konzentrierter Schwefelsäure schlägt die gelbe Farbe der Konidien zu Purpurrot um, bei Zusatz von Wasser erscheint das Gelb wieder. Janssens²⁾ fand eine ähnliche Reaktion bei dem Farbstoff einer *Torula*-Spezies: Bei Zusatz von Schwefelsäure wurde der Farbstoff indigoblau, bei Zusatz von Wasser wurde er grün, nach nochmaligem Zusatz von Säure wieder indigoblau.

Kulturen mit gelben Konidien verfärben sich einige Tage nach der Sporenbildung und werden leicht braun (vergl. die gelben Farben der kolorierten Fig. B, C), an den grünen Kulturen tritt kaum eine nennenswerte Verfärbung ein. Zopf³⁾ erwähnt ähnliche Veränderungen der Sporenfarbe für Brand- und viele Schlauchpilze. Er schreibt die Veränderung der oxydierenden Wirkung der Atmosphäre zu. Krukenberg⁴⁾ bezeichnet den Vorgang als „Melanose“. Bei *Hypocrea rufa* hat die Oxydation von Substanzen, die schon vorher in den Sporen gebildet waren, ohne Zweifel einen wichtigen Anteil an der Veränderung, und das Licht spielt dabei eine wichtige Rolle. Gelbe Kulturen, die unmittelbar nach der Fruktifikation ins Dunkle gebracht werden, behalten noch wochenlang ihre gelbe Farbe. Einige Kontrollkulturen am Licht wurden in 1—2 Tagen braun.

B. *Hypocrea gelatinosa* (?)⁵⁾.

Die mit *Hypocrea rufa* gewonnenen Resultate machten es wünschenswert, einen zweiten ähnlichen, farbstoffbildenden Pilz auf die Bedingungen seiner Pigmentproduktion zu untersuchen.

1) Wehmer, *Botanische Zeitung*. 1891.

2) Janssens, *Etude micro- et cytologique d'une Torula*. 1903. p. 351.

3) Zopf, *Die Pilze*. 1890. p. 162.

4) Ibid.

5) Rabenhorst, *Kryptogamenflora*. 1, 2. p. 140.

Gleichzeitig mit *Hypocrea rufa* sammelte ich an den gleichen Standorten eine zweite *Hypocrea*-Spezies, die ich als *Hypocrea gelatinosa* bezeichnen will, ohne die Bestimmung als sicher zutreffend zu betrachten. Hinsichtlich der Farbstoffbildung verhält sich *Hypocrea gelatinosa* ähnlich wie *Hypocrea rufa*, über einige Unterschiede gibt die Tabelle Aufschluß.

Tabelle 13.
Zur Vergleichung von *Hypocrea rufa* und *Hypocrea gelatinosa*.

	<i>Hypocrea rufa</i>	<i>Hypocrea gelatinosa</i>
Zeit zur Fruktifikation (Temp. 16—18°)	6—7 Tage	4 $\frac{1}{4}$ —6 Tage
Form der Fruktifikation auf gewöhnlichem Nährboden	kleine isolierte Köpfchen	gleichmäßig ausgebreitet
Farbe der Fruktifikation	meist dunkel olivgrün	meist hell kupfergrün
Hoher osmotischer Druck	weiße Fruktifikation	zuerst gelb, wird schmutzig weiß
Farbe auf Agar + Pepton 2 Proz. + Knop 0,5 Proz.	gelb	
Reaktion des Mediums, wenn Fruktifikation gelb	alkalisch	
Reaktion, wenn Fruktifikation grün	sauer	
Veränderung, in der Reaktion des Mediums verursacht	Veränderung in der Farbe	

Hypocrea gelatinosa unterscheidet sich von *Hypocrea rufa* zunächst durch ihr lebhafteres Wachstum und ihren ausgebreiteten hellgrünen Konidienbelag. Weitere Unterschiede kommen bei der Kultur im Medium von hohem osmotischen Druck zum Ausdruck: *Hypocrea rufa* bildet weiße, *Hypocrea gelatinosa* gelbe Konidien. Im übrigen stimmen beide in allen wesentlichen Punkten miteinander überein.

C. *Aspergillus niger*.

Gelegentliche Verunreinigungen einiger Bakterienkulturen mit *Aspergillus niger* fielen mir dadurch auf, daß die Sterigmata des Pilzes gelb gefärbt waren. Die Kulturen waren auf Agar mit 0,5 Proz. Pepton im Dunkeln erwachsen. Um die ungewöhnliche Farbenerscheinung näher zu studieren, wurden Agarkulturen mit 2 Proz. Pepton angesetzt und im Dunkeln belassen. Nach Verlauf von 3 Tagen zeigte sich, daß nicht nur die Sterigmata, sondern auch die meisten Luftfäden gelb gefärbt waren. Diese Färbung war jedoch nicht gleichmäßig, vielmehr lagen zwischen den gefärbten Fäden viele farblose und sogar an demselben Faden wechselten farblose und gefärbte Stellen. Derselbe Farbstoff, der den Zelleninhalt färbt, erscheint auch außerhalb der Zellen in Form kleiner unregelmäßiger Körper auf der Oberfläche der Hyphen. Da

es von Interesse schien, zu prüfen, ob eine besondere, zur Pigmentbildung besonders befähigte Form des *Aspergillus* vorlag, nahm ich die Güte des Herrn Dr. Krüger von der landwirtschaftlichen Versuchsstation zu Halle in Anspruch, der mir eine Impfkultur von seinem aus Prag (Král) bezogenen *Aspergillus* überließ. Die Farbstoffbildung war bei den mit Prager Material angesetzten Kulturen dieselbe wie bei den zuerst geschilderten. Es liegt somit kein Grund vor, eine besondere zur Produktion gelben Pigmentes befähigte Rasse des Pilzes anzunehmen. Herrn Dr. Krüger sage ich für seine Gefälligkeit meinen besten Dank.

1. Einfluß äußerer Bedingungen auf die Bildung des gelben Farbstoffes.

Auf Agar + 4 Proz. Pepton bildet der Pilz, wie wir gesehen haben, einen gelben Farbstoff (s. kolor. Fig. D), der bei einer Steigerung des Peptons bis zu 20 Proz. eintritt.

a) Um den Einfluß des osmotischen Druckes zu bestimmen, wurde Agar + 4 Proz. Pepton als Ausgangsmaterial benutzt, zu welchem Kochsalz in wechselnden Mengen zugesetzt wurde, so daß der osmotische Druck dem von 5–30 Proz. Traubenzucker gleichkam. Die Farbstoffbildung blieb in allen Fällen die gleiche, ist also vom osmotischen Druck unabhängig.

b) Zusatz von Säure (0,1–0,5 Proz. Phosphorsäure) zu Agar + 4 Proz. Pepton begünstigt die Bildung von gelbem Farbstoff, andererseits wirkt Zusatz von 0,1–0,5 Proz. kohlen-saurem Natron ungünstig. Reagenzgläser mit einigen Kubikzentimetern von sterilisiertem destilliertem Wasser wurden mit Sporen von *Aspergillus* geimpft, geschüttelt und dann auf die Oberfläche von Nährboden aus Agar + 4 Proz. Pepton gegossen. 3 Tage nach der Impfung wurden die Kulturen — ähnlich wie unsere früher geschilderten *Hypocrea*-Kulturen — teils mit sauren, teils mit alkalischen Salzen bestreut; erstere begünstigen die Bildung des gelben Farbstoffes beträchtlich, letztere verzögern sie. Durch Zusatz von Säure zu einer Lösung des Farbstoffes in Alkohol wird die gelbe Farbe intensiver, durch Alkali wird sie meist völlig zerstört.

c) Um den Einfluß des Sauerstoffmangels zu bestimmen, wurde farbloses Mycel in eine 4-proz. Lösung von Pepton untergetaucht; noch nach 7 Tagen war es farblos, bis auf diejenigen Stellen, welche die Oberfläche berührt hatten. Das farblose Mycel wurde mit destilliertem Wasser gründlich gewaschen und, auf eine Glasplatte gelegt, in einer feuchten Kammer belassen. Nach 24 Stunden wurde es vollständig gelb. Es ist somit hinreichende Sauerstoffzufuhr für die Bildung des gelben Farbstoffes unerläßlich.

d) Gegen Licht ist der gelbe Farbstoff sehr empfindlich: Werden Peptonkulturen mit gelbem Mycel dem Lichte ausgesetzt, so nimmt das Mycel in einigen Stunden einen schmutzig grauen Ton an. Eine Lösung des gelben Farbstoffes in Alkohol wird am Licht in kurzer Zeit rötlich-braun.

Die Produktion des gelben Pigmentes ist übrigens nicht an Peptonernährung mit oder ohne Knop gebunden, sondern läßt sich auch bei Dunkel- und Lichtkulturen auf folgenden Agarnährböden beobachten: 40 Proz. Pflaumensaft¹⁾, 2 Proz. Fleischextrakt, 2 Proz. Kreatin, 2 Proz. Ammonium bimalicum, 2 Proz. Asparagin, 5 Proz. Glukose + 0,5 Proz. Knop. Auf dem Pflaumensaftnährboden wird der gelbe Farbstoff ebenso reichlich gebildet wie auf Pepton; bei den übrigen muß man reichliche Aussaaten machen, damit eine dichte Myceldecke entsteht und die Farbe leicht wahrnehmbar wird. Völlig farblos, d. h. ohne gelbes Pigment, blieben nur die Kulturen bei besonders schlechter Ernährung — jedenfalls geht aus unseren Versuchen hervor, daß *Aspergillus niger* auf Nährböden der verschiedensten Art zu mehr oder minder reichlicher Produktion des gelben Farbstoffes befähigt ist.

2. Vergleiche und Unterschiede des schwarzen und des gelben Farbstoffes.

Weiterhin ist zu untersuchen, ob der gelbe Farbstoff einen Anteil an der Färbung der Sporen von *Aspergillus niger* hat. Wenn Peptonkulturen mit der beschriebenen intensiven Farbstoffproduktion zu fruktifizieren anfangen, verschwindet meistens die Farbe, besonders wenn die Kulturen ans Licht gebracht werden. Um zu prüfen, ob vielleicht der gelbe Farbstoff irgend einen Anteil an der Färbung der schwarzbraunen Sporen hat, wurden von alten Kulturen, die keine Spur von gelbem Farbstoff zeigten, zahlreiche schwarze Sporen durch auftropfendes Wasser abgespült, aufs Filter gebracht und dann in einem Mörser mit Sand und Alkohol²⁾ zerrieben. Die Masse wurde dann von neuem filtriert, und dabei wurde eine hellgelbe Lösung gewonnen. Hiernach schien es nicht ausgeschlossen, daß zwischen dem gelben und dem schwarzen Farbstoffe unserer *Aspergillus*-Kulturen irgendwelche Beziehungen existierten. Wie oben erwähnt, wird eine Lösung des gelben Farbstoffes im Licht in einigen Stunden rotbraun, bei hinreichender Konzentration erscheint die Lösung schwarz. Zusatz einiger Tropfen Baryhydratlösung ruft einen braunschwarzen Niederschlag hervor. Bei der spektroskopischen Untersuchung zeigt die gelbe Lösung vollständige Absorption des Rotviolett, die im Licht rotbraun verfärbte absorbiert außer Rotviolett noch einen Teil des Blau. Ebenso verhält sich eine Lösung des schwarzen Sporenfarbstoffes in schwachem Ammoniak. Wenn eine Lösung des schwarzen, aus Sporen gewonnenen Farbstoffes mit Reduktionsmitteln, z. B. Chlor oder Brom (s. auch Van der Dries³⁾), behandelt

1) Die Pflaumensaftkulturen fielen durch ausgesprochenen Kampfergeruch auf.

2) Die Alkoholmischung muß neutral sein, da der schwarze Farbstoff in angesäuertem Alkohol löslich und in neutralem Alkohol unlöslich ist.

3) Van der Dries, *La Cellule*. Vol. XIII. 1897. p. 415.

wird, so wird sie gelb. Diese Resultate und die Tatsache, daß bei der Konidienbildung viel gelber Farbstoff von dem Mycel verschwindet, legt die Folgerung nahe, daß der gelbe Farbstoff zur Zeit der Konidienbildung vielleicht durch Oxydation in Schwarz verwandelt wird. Meine Versuche, den gelben Farbstoff durch Oxydationsmittel in Schwarz zu verwandeln, blieben erfolglos. Abgesehen davon, daß der gelbe wie der schwarze Farbstoff durch Barythydrat aus ihren Lösungen gefällt werden, ließ sich keine weitere, beiden gemeinsame Reaktion finden.

Die physiologischen Beziehungen der beiden Farbstoffe zueinander sind also nicht als völlig aufgeklärt zu bezeichnen. Immerhin dürften wir mit der oben genannten Vermutung dem tatsächlichen Sachverhalt nahe gekommen sein.

D. *Bacillus ruber balticus*.

Bacillus ruber balticus, der sogenannte Kieler *Bacillus*¹⁾, bildet kurze, bewegliche Stäbchen. Er gehört zu den Pigment produzierenden roten Mikroorganismen, als deren bekanntester Vertreter *Micrococcus prodigiosus* am häufigsten untersucht worden und am besten bekannt ist. Ueber ihn liegen zahlreiche Daten betreffend die Bedingungen der Farbstoffproduktion vor. Auf Kartoffel beispielsweise bringt er eine schöne rote Farbe hervor, nach Impfung auf alkalischen Agar verliert er die Fähigkeit zur Farbstoffbildung; fortgesetzte Kultur auf alkalischem Agar führt zur Bildung sogenannter „farbloser Varietäten“. Schottelius²⁾ erreichte durch Kultur bei hoher Temperatur ein ähnliches Resultat. „Farblose Varietäten“ dieser Art sind aber selbst unbeständig insofern, als die Fähigkeit zur Bildung von Farbstoff bei fortgesetzter Züchtung unter günstigen Bedingungen wieder auftreten kann. Migula³⁾ spricht daher mit Recht von „Formen“, statt von „Varietäten“.

Ueber unseren Kieler *Bacillus* stellte Laurent⁴⁾ eingehende Untersuchungen an und ermittelte, daß der *Bacillus*

1. auf gewissen Nährböden Säure, auf anderen Alkali bildet;
2. daß zu hohe Temperatur ungünstig auf die Farbbildung wirkt;
3. daß farblose Formen erreicht werden:
 - a) durch Kultur in direktem Sonnenlicht,
 - b) auf stark sauren und
 - c) auf stark alkalischen Medien.
4. Auf Kartoffel bei 35° fällt die Farbe violett aus; läßt man dieselbe Kultur 15 Stunden bei 18° stehen, so wird sie karminrot, bei 35° wird sie wieder violett.
5. Durch Zusatz von Salzsäure wird die violette Farbe verstärkt. Er folgert aus seinen Versuchen, daß in den Kulturen bei

1) Breunig, J., Untersuchungen des Trinkwassers der Stadt Kiel. 1888.

2) Flügge, Die Mikroorganismen. Bd. II. p. 302.

3) Migula, System der Bakterien. Bd. I. p. 222, 290.

4) Laurent, Etude sur la var. du Bacille rouge de Kiel. (Annales de l'Inst. Pasteur. 1890. No. 8. p. 465.)

hoher Temperatur die Atmungstätigkeit der Bakterien und ihre Kohlensäureproduktion befördert und durch Kohlensäure die Produktion violetten Farbstoffes begünstigt wird. Wir werden später auf Grund eigener Versuche seine Ergebnisse gewissermaßen bestätigen, aber immerhin zeigen, daß der Einfluß von Kohlensäure auf die Produktion der violetten Farbe ein untergeordneter ist. Die in dem Nährboden vorhandene absolute Menge von Säure oder Alkalien ist der für die Farbe bestimmende Faktor.

1. Einfluß der Zusammensetzung und Reaktion des Mediums auf die Bildung der Farbe.

Da bei Kartoffelkulturen ein chemisch zu wenig bekanntes Nährmedium vorliegt, wurde statt auf Kartoffeln der Bacillus auf Agarsubstraten von verschiedener, aber bekannter Zusammensetzung kultiviert. Gutes Wachstum wurde erzielt auf Agar¹⁾ + Pepton 0,5 Proz. + Trikaliumphosphat 0,1 Proz. + schwefelsaures Magnesium 0,1 Proz., die Farbe fiel violett und die Reaktion alkalisch aus. Petri-Schalen, welche 25 ccm des Nährmaterials enthielten, und Reagenzgläser mit 1—1½ ccm destilliertem Wasser wurden sterilisiert. Das Wasser wurde mit dem Bacillus geimpft, geschüttelt und über dem Nährboden in die Petri-Schalen ausgegossen; auf diese Weise erhielt man ein gleichmäßiges Wachstum des Bacillus auf der ganzen Oberfläche. In 20—30 Stunden war das Wachstum gut vorgeschritten, die Farbe war orangerot. Um den Einfluß der Reaktion auf die Farbe zu prüfen, wurden die Schalen zur Hälfte (wie schon früher) bestreut mit den folgenden Substanzen:

Tabelle 14.
Bestreuung mit sauren resp. alkalischen Produkten.

No.	Substanz	½ unbestreut		¼ bestreut	
		Reaktion	Farbe	Reaktion	Farbe
1	Weinstein	alkalisch	orangerot	sauer	rotviolett
2	Kalium bimalicum	"	"	"	"
3	Asparaginsäure	"	"	"	blauviolett
4	Traubenzucker	"	"	"	rotviolett
5	kohlensaures Magnesium	"	"	alkalisch	orangerot,
6	kohlensaures Kalium	"	"	"	das Wachst. nicht gut.

Bei 1—4 wird offenbar die Bildung der violetten Farbe gefördert, bei 5—6 wird Wachstum und Farbbildung durch Zusatz der Chemikalien gehemmt.

Da die Farbenänderung im Medium aufzutreten schien, wurden zur weiteren Prüfung der Frage Kulturen mit Nährböden angesetzt, durch welche der Bacillus zur kräftigen Säureproduktion angeregt wird. In Uebereinstimmung mit Laurent²⁾ konnte ich

1) 1½ Proz. Agar wurden benutzt, das Pepton ex carne von Merk bezogen.

2) Laurent, l. c. p. 472.

nachweisen, daß auf zuckerhaltigen Nährböden der Bacillus reichliche Säure produziert (s. folgende Tabelle):

Tabelle 15.

Einwirkung von Traubenzucker verschiedener Konzentrationen auf die Farbe des Bacillus.

No.	Zusatz	Reaktion	Farbe
1	Ohne Zusatz	alkalisch	orangerot
2	Traubenzucker 0,5 Proz.	neutral	karmin bis violett
3	„ 1,0 „	schwach sauer	} rotviolett, Wachstum ausgezeichnet
4	„ 2,0 „	„ „	
5	„ 3,0 „	sauer	violett mit etwas weiß
6	„ 4,0 „	sauer (stark)	weiß
7	„ 5,0 „	„ („)	„
8	„ 6,0 „	„ („)	„
9	„ 7,0 „	„ („)	kein Wachstum.

Je stärker der Glukosegehalt, desto saurer wird der Nährboden. Hand in Hand mit den Veränderungen in der Reaktion des Substrates geht der Wechsel in Farbe und Nuance des Bacillus: Je stärker die Acidität, desto kräftiger der violette Ton, bis schließlich bei 4 Proz. Glukose die Farbstoffbildung und bei 7 Proz. das Wachstum des Bacillus völlig gehemmt wird. Um zu zeigen, daß tatsächlich die entstandene Säure und nicht der hohe osmotische Druck der Glukoselösung das maßgebende Moment ist, wurden Kontrollversuche mit Chlornatrium gemacht. Die Konzentration des Kochsalzes erwies sich als völlig gleichgültig für die Farbenbildung, solange nicht durch allzuhohe Konzentration Wachstum und Farbenbildung völlig unterdrückt wurde.

Glukose veranlaßt, wie gesagt, Säurebildung seitens des Bacillus: Pepton veranlaßt Alkaliproduktion. Es wäre möglich, daß sich ein Mischungsverhältnis zwischen Pepton und Glukose finden ließe, bei welchem der Nährboden annähernd neutral bleibt. Es wurden daher Kulturen angestellt, welche Pepton und Glukose in folgenden Verhältnissen enthielten:

- | | | |
|----------------|---------------------|------------------|
| 1) G: P 1: 10 | Reaktion: alkalisch | Farbe: orangerot |
| 2) G: P 1: 5 | „ neutral | „ rötlich |
| 3) G: P 1: 2,5 | „ sauer | „ violett |
| 4) G: P 1: 1 | „ „ | „ „ |

Es zeigt sich, daß der Neutralpunkt bei einer Mischung von 1 Teil Glukose mit 5 Teilen Pepton erreicht ist, der Bacillus produziert auf neutralem Substrat einen ziegelroten Farbstoff.

Das Gesagte gilt nur für Kulturen bei 16—20° C. Bei höherer Temperatur herrscht die Säureproduktion vor, die Farbe fällt daher violett aus; bei niedrigen Temperaturen wird umgekehrt mehr Alkali produziert, die Farbe wird orangerot. Hierdurch erklärt sich auch die Farbenänderung auf Kartoffelkulturen bei verschiedenen Temperaturen, die bereits Laurent beschrieben hat.

2. Wirkungen von Säuren und Alkalien auf den Farbstoff und seine Lösungen.

Bacillus ruber balticus, der auf Kartoffel bei 10° C gezüchtet wird, bildet nach Verlauf einer Woche eine dicke orange-rote Schicht. Ein Tropfen verdünnter Lösungen von folgenden Säuren verwandelt die orangerote Farbe sofort in violett¹⁾: Salpeter, Phosphor, Schwefel, Salz, Milch, Essig, Weinstein etc. Der geringe Zusatz schwach alkalischer Lösungen bringt sofort die orangerote Farbe zurück. Violette Kartoffelkulturen färben sich bei Alkalizusatz orangerot; auch nach dem Umkehren des Reagenzglases — durch das man das Entweichen flüchtiger alkalischer Stoffwechselprodukte verhindern kann — nehmen die Kulturen ziegelroten Ton an. Durch Zusatz von Säuren werden sie wieder violett.

Die auf den Kartoffeln gebildete violette Farbe wurde in Wasser gelöst und neutralisiert (Farbe blaßrosarot). Dann wurde zu 5 ccm der Lösung ein Tropfen $\frac{1}{10}$ normaler Lösung von kohlen-saurem Natron zugesetzt, die Farbe wird dann orangerot; ein Tropfen von $\frac{1}{10}$ normaler Säure bringt die blaßrosarote Farbe wieder hervor. 5 ccm der neutralen Farbelösung werden durch Zusatz eines Tropfens von $\frac{1}{10}$ normaler Säure violett, ein Tropfen von normalem Alkali bringt die rosarote Farbe wieder hervor. Einige Kubikzentimeter der neutralen Farbelösung werden vollständig mit Kohlensäure gesättigt, die Lösung nimmt dabei einen äußerst schwach violetten Ton an. Durch die Empfindlichkeit des Pigments verschiedenen Reagentien gegenüber erklärt sich die ungleiche Färbung des Bacillus. Kommen wir hiernach noch einmal auf die Auffassung zurück, die sich Laurent über die Wirkung der Kohlensäure gebildet hat, so können wir seine Angaben dahin ergänzen, daß der Kohlensäure nur eine sehr schwache Wirkung zukommt, die durch die Wirkung anderer Säuren weit in den Schatten gestellt wird.

Nach Fischer ist die Bildung der Chromogene bei chromoparen Bakterien unabhängig von der Reaktion des Mediums. Wenn seine Auffassung zutreffend ist, dürfen wir aus unseren Versuchen nur folgern, daß die aus dem Chromogen entstehende Farbe durch die Reaktion des Substrates sich beeinflussen läßt.

Schluß.

Die Ergebnisse der Versuche lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

1) Durch steigenden osmotischen Druck läßt sich bei *Hypocrea rufa* die Pigmentbildung in den Konidien — weiße, schließlich auch die Konidienbildung unterdrücken.

2) Die Farbe der Konidien ist durch die Reaktion des Mediums bestimmt; bei saurer Reaktion werden grüne Sporen, bei alkalischer Reaktion gelbe gebildet.

1) Siehe auch Schneider, Inaug.-Diss. Basel 1894. p. 16.

3) Gut ernährtes Mycel gibt im Dunkeln keine Fruktifikation; bei reicher Sauerstoffzufuhr oder bei schlechter Ernährung tritt Konidienbildung ein.

4) Ähnlich wie *Hypocrea rufa* verhält sich hinsichtlich der Sporen- und Farbenbildung *Hypocrea gelatinosa* (s. Tab. 13).

5) *Aspergillus niger* bildet, außer dem bekannten schwarzen Sporenfarbstoff in seinem Mycel, mehr oder minder reichlich gelbes Pigment, das auch in den schwarzen Sporen nachweisbar ist. Die gelbe Farbe ist gegen Licht sehr empfindlich, sie wird durch das Licht in einigen Stunden grau oder schwarz.

6) *Bacillus ruber balticus* wird in seiner Farbstoffproduktion durch die Reaktion des Nährbodens beeinflusst: Bei saurer Produktion entsteht violette, bei alkalischer Reaktion orangerote Farbe.

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom Oktober 1902 bis April 1904 im Laboratorium des Herrn Prof. Dr. Klebs zu Halle ausgeführt. Für seine wertvolle Anregung und Unterstützung möchte ich meinem hochverehrten Lehrer hierdurch aufrichtig danken. Ebenso fühle ich mich Herrn Privatdozenten Dr. E. Küster für seine bereitwillige Förderung zu aufrichtigem Danke verpflichtet.

Literatur.

- Behr, Ueber eine nicht mehr farbstoffbildende Rasse des *Bacillus* der blauen Milch. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VII. 1890. p. 485)
- Beijerinck, Die Lebensgeschichte einer Pigmentbakterie. (Botan. Ztg. 1891.)
- Blumenthal, Ueber den Einfluß des Alkali auf den Stoffwechsel der Mikroben. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XXVIII. 1895. p. 223.)
- Claessen, Ueber einen indigoblauen, Farbstoff erzeugenden *Bacillus* aus Wasser. (Centralbl. f. Bakt. Bd. VII. 1890. p. 13.)
- Freudenreich, Sur une variété particulièrement chromogène du *Bacillus pyocyaneus*. (Annal. de microsc. T. V. 1893. No. 4.)
- Deeleman, Der Einfluß der Reaktion des Nährbodens auf das Bakterienwachstum. (Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt. Bd. XIII. 1897. Heft 13.)
- du Bois Saint Servin, Panaris des pecheux et microbe rouge de la sardine. (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1894.)
- Fischer, Vorlesungen über Bakterien. Jena 1903. p. 146—153.
- Flügge, Die Mikroorganismen. 3. Aufl. Bd. I. 1896. Ueber Variabilität p. 475; Ueber Säure- und Alkalienbildung p. 178—457.
- Gessard, Sur les pigments divers produits par le microbe pyocyanique. (La sem. méd. 1890. No. 9.)
- Kunze, Beiträge zur Kenntnis der Bedingung der Farbstoffbildung des *Bacillus prodigiosus*. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVIII. p. 602.)
- Laurent, Variabilité du bacille rouge de Kiel. (Annal. de l'Inst. Pasteur. Paris 1890. p. 465.)
- Mühsam und Schimelbusch, Ueber die Farbenproduktion des *Bacillus pyocyaneus* bei der Symbiose mit anderen Organismen. (Arch. f. klin. Chir. Bd. XLVI. 1893. No. 4.)
- Migula, System der Bakterien. Bd. I. 1897. Ueber Farbstoffbildung p. 283; Ueber Variabilitätskreise p. 225.
- Nösske, Neue Untersuchungen über den *Bacillus pyocyaneus* und die Gesetze der Farbstoffbildung. (Arch. f. klin. Chir. Bd. LXI. p. 266.)
- Pfeiffer, Pflanzenphysiologie. Bd. I. 1897. Ueber saure und alkalische Reaktion p. 489—491; Ueber Farbstoffe p. 498.
- Rohrer, Ueber Pigmentbildung des *Bacillus pyocyaneus*. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XI. 1892. p. 327.)
- Rosenberg, W., Beitrag zur Erkenntnis der Bakterienfarbstoffe, insbesondere der Gruppen des *Bacillus prodigiosus*. Diss. Würzburg 1899.

Schneider, Die Bedeutung der Bakterienfarbstoffe für die Unterscheidung der Arten. Diss. Basel 1894.

Schrenck, Blue and red rot of the Western pine. (U. S. Dept. of Agr. [Bureau of plant industry]. Bull. No. 36.)

Tiry, G., Sur une bactérie produisant plusieurs couleurs (bacille polychrome). (Compt. rend. soc. de biol. 1896. p. 885.)

Zopf, Die Pilze. 1890. Ausscheidung von Oxalsäure p. 184; Umwandlung der Farbstoffe p. 162.

Zum Schlusse erwähne ich noch die Arbeit von E. A. Bessey: „Ueber die Bedingungen der Farbbildung bei *Fusarium*“, die gleichzeitig mit der vorliegenden im Hallenser botanischen Institut entstanden ist und demnächst erscheinen wird.

Nachdem ich vorliegende Arbeit bereits beendet und niedergeschrieben, erschien folgende: Sur la biologie du *Sterigmatacystis versicolor*, note de MM. Henri Coupin et Jean Friedel, présentée par M. Gaston Bonnier (Compt. rend. de l'Acad. d. sc. T. CXXXVIII. Paris 1904. p. 118).

Verf. fand:

- 1) Auf schwach saurem Nährboden ausgeschiedenes Pigment gelb

„ neutralem	„	„	„	orange
„ alkalischem	„	„	„	rot
- 2) Pigmentlösung (Alkohol)

Durch Zusatz von Säure	gelb
„ „ „ Alkali	rot
- 3) Auf Raulins Lösung Farbe in den Sporen grün

„	ohne Mg	}	Farbe in den Sporen graurot
„ Kartoffel			
„ Mohrrübe			

Erklärung der kolorierten Figuren.

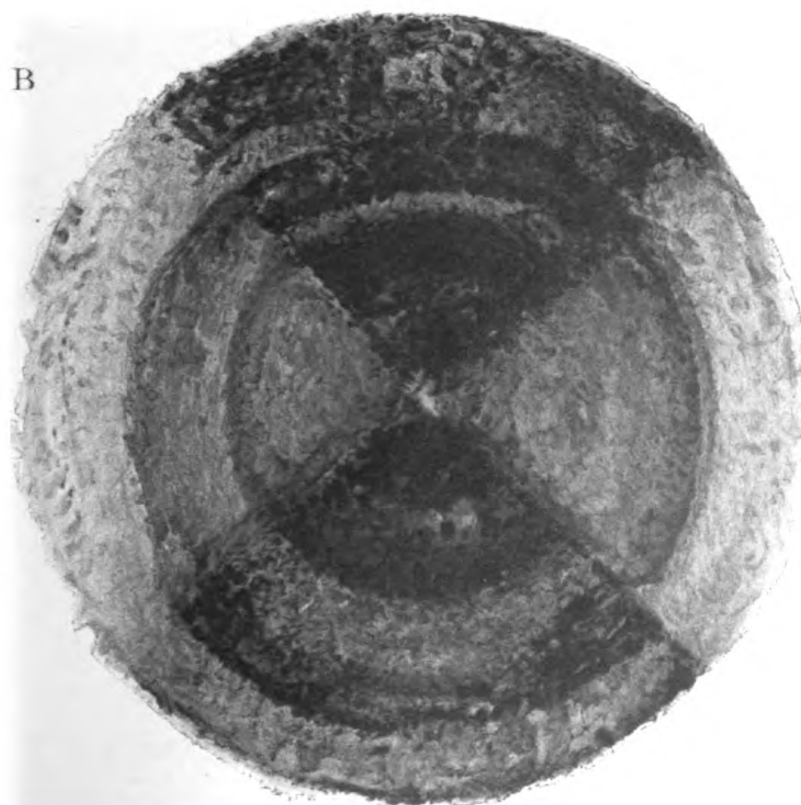
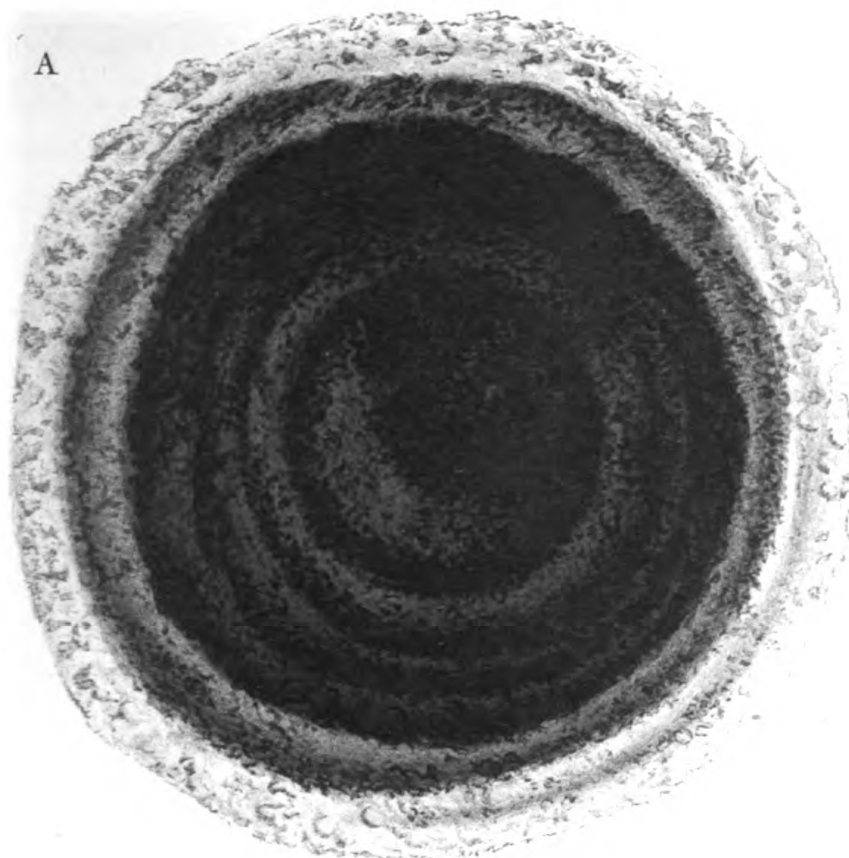
A. Form des Wachstums und Farbe der Konidien von *Hypocrea rufa*, wenn sie auf Agar + Pflaumensaft 40 Proz. + Knop 0,5 Proz. gezüchtet ist. Reaktion sauer. (S. Tabelle 2.)

B. *Hypocrea rufa* auf demselben Nährboden wie oben A (Reaktion alkalisch). Die Bildung von grünen Konidien verursacht durch Bestreuung mit Weinstein. Reaktion sauer, am Anfange der Fruktifikation.

C. *Hypocrea rufa* mit gänzlich gelber Fruktifikation auf Agar + Pepton 2 Proz. + Knop 0,5 Proz. Reaktion alkalisch.

D. Zeigt die gelbe Farbe des Myceliums von *Aspergillus niger*, wenn er auf Agar + Pepton 4 Proz. wächst. Reaktion sauer. Die braune Stelle ist der unbedeckte Nährboden.

Die kolorierten Figuren wurden von Frau Prof. Klebs angefertigt.



C



D



Ueber Kugelhefe und Gärung bei *Mucor javanicus*.

Von C. Wehmer, Hannover.

Mit 2 Figuren.

Der bei anderer Gelegenheit¹⁾ als Bestandteil des javanischen Ragi („chinesische Hefe“) von mir beschriebene *M. javanicus* ist ein kräftiger Alkoholgärungserreger, er bildete jedoch keine sogenannte Kugelhefe, vielmehr keimten die bei submerser Vegetation durch Hyphenzerfall entstehenden „Kugelnzellen“²⁾ ausschließlich mit Keimschlauch aus, auch dieser zerfiel alsbald wieder durch Querwandbildung in sich voneinander trennende und abrundende kleine kugelige Zellen; die so entstehenden Bilder isolierter Kugelnzellen verschiedener Größe gleichen täuschend Hefenzellen. Sie entstehen aber nicht durch Knospung, sondern eben durch Spaltung.

Diese Versuche habe ich mittlerweile fortgesetzt und da ergab sich, daß der *Mucor* auch eine wirkliche „Kugelhefe“ erzeugt, vorausgesetzt, daß man nicht bloß submers arbeitet, sondern für völligen Luftabschluß sorgt. Hier sprossen also die durch Hyphenzerfall entstehenden bis 24 μ großen Kugelnzellen direkt zu ebensolchen Knospen aus, ohne daß es zu einer Keimschlauchbildung kommt. Man beobachtet die Erscheinung bereits im Einhornschen Gärungs-saccharometer, allerdings erst nach einiger Zeit und mäßig reichlich, aber doch in vollkommen deutlicher Weise. Jedes Präparat aus dem am Boden des Saccharometers liegendem grauen, teigig-fädigen Satz zeigt die Sprossung in allen Stadien (s. Abbildungen) und nicht anders, wie wir sie auch von *M. racemosus* kennen.

Aus den Tatsachen ergibt sich also eindeutig, daß in dem Maße wie der Luftzutritt allmählich beschränkt wird, auch die Wachstumserscheinungen reduziert werden: Zunächst erlischt an submersen Mycelien das ergiebige Spitzenwachstum der Hyphen, an seine Stelle tritt interkalares (Septenbildung), die entstandenen Kugelnzellen keimen nach Freiwerden dann anfangs noch zu Hyphen aus, aber auch diese Hyphen zerfallen sehr bald wieder unter Kugelnzellbildung, der entstehende Keimschlauch wird immer kürzer, um schließlich bei völliger Behinderung des Sauerstoffzutritts — und vor gänzlicher Sistierung des Wachstums — auf eine bloße Knospe reduziert zu werden; unter solchen Umständen bleibt dann als Energiequelle

1) Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 612.

2) Kugelnzellen, im Gegensatz zu Gemmen, als unter abnormen Verhältnissen (Luftmangel) innerhalb des Substrats durch Teilung und Spaltung wachsender Hyphen entstehende einzellige vegetative Organe. Gemmen sind dagegen unter normalen Vegetationsbedingungen und Verdichtung des Plasmas, oft auch gleichzeitiger Wandverdickung entstehende Ruhestadien. Diese Gegenüberstellung und Benennung der beiderlei verschiedenartigen Organe erscheint mir zur Zeit die bessere. Uebrigens gebe ich heute die Existenz einer Kugelhefe ohne weiteres zu (gegenüber meinem früheren Zweifel, s. Centralbl. f. Bakt. Abt. II., Bd. VII. 1901. p. 320), es bleibt aber für jeden Fall die Entstehung durch Knospung (nicht durch Spaltung!) zu zeigen; beides führt zu dem gleichen mikroskopischen Bilde. Häufiger entstehen die einzelligen hefeähnlichen Entwicklungsstadien durch Querteilung.

für das übrigens wenig intensive Wachstum (die Sprossungsvorgänge sind sehr träge und durchweg wenig umfangreich)¹⁾ nur noch die Spaltung des gärfähigen Zuckers in Alkohol und Kohlensäure, also eine unvollständige Materialausnutzung. Die Hefebildung — das heißt Sprossung der Kugelzellen — bei unserem *Mucor* ist also lediglich eine Hemmungserscheinung, bei genügendem Sauerstoffzutritt geht sie sofort in Hyphenbildung über, die Ausstülpung wächst zu einem längeren Faden aus.

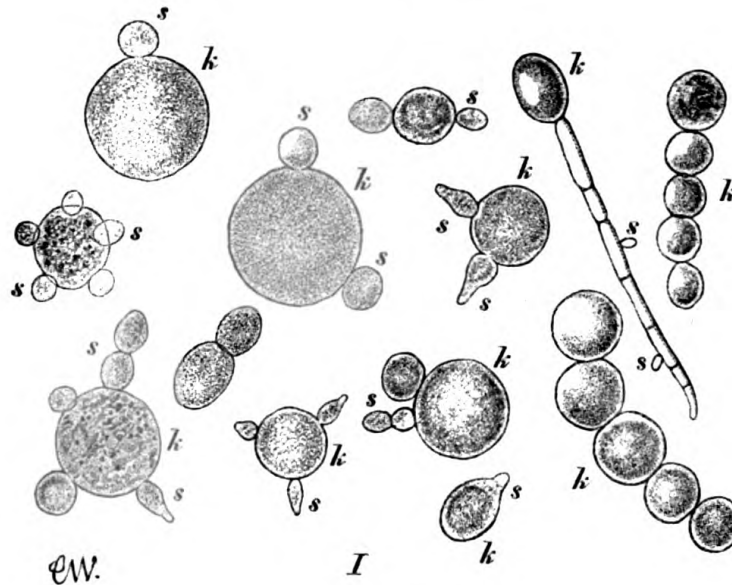


Fig. 1.

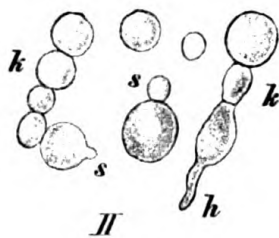


Fig. 2.

Fig. 1. Kugelhefebildung bei *Mucor javanicus* im Gärungssaccharometer nach 20 Tagen (verdünnte Bierwürze). Die Kugelzellen (*k*) teils noch zu kleinen Ketten vereinigt, teils isoliert und kugelige oder ovale Knospen (*s*) bildend; eine derselben ist zu längerem, bereits septiertem Faden, der zwei seitliche Sproßzellen zeigt, ausgewachsen. (Vergr. ca. 270.)

Fig. 2. Kugelzellen von *Mucor Rouxii* unter denselben Umständen entstanden, zwei davon sprossend, eine mit längerem Faden auswachsend. (Vergr. ca. 250.)

Daß weiterhin jenes enge Verhältnis zur Alkoholgärung, wie man es gewöhnlich betont, nicht besteht, läßt sich unschwer zeigen; Kugelhefebildung und Gärung sind nicht voneinander abhängige, sondern nur rein zufällig — also keineswegs immer — nebeneinander verlaufende Prozesse, gewöhnlich tritt zwar die Gärung im „Hefestadium“ des Pilzes, oder richtiger als Begleitung der

1) Daß auf diese Art viele Generationen entstehen, möchte ich bezweifeln; der Kugelzellensatz am Boden der Flüssigkeit ist immer recht spärlich, nimmt also wenig an Masse zu. Die ganze Sprossung macht mehr den Eindruck, als ob sie der Anfang vom Ende wäre, d. h. die letzte Wachstumsäußerung vor völliger Sistierung.

Kugelzellbildung, deutlicher hervor, sie wird aber gerade so gut durch die untergetauchten morphologisch unveränderten Mycelien hervorgerufen. Ein Pilz (*M. racemosus*), der bei submerser Vegetation sogleich zerfällt und sprossende Kugelzellen bildet, ruft natürlich in diesem Stadium Alkoholgärung hervor, das ist aber keineswegs nun eine Folge der Hefebildung, denn das Wachstum als Knospung hat als solches mit der Alkoholbildung, etwa als besonderem physiologischen Ausdruck derselben¹⁾, nichts zu schaffen, wenn im übrigen auch wachsende Kugelzellen oder Sproßstadien der Mucorineen gerade so gut gärfähigen Zucker spalten wie die normale Hyphe. Alkoholansammlung wie Hefebildung sind eben jedes für sich Folge des behinderten Sauerstoffzutritts; wir wissen ja auch, daß in anderen Fällen das eine oder das andere allein auftritt.

Alkoholgärung durch Mycelien von Mucorineen kennen wir an mehreren Beispielen (*M. Rouxii*, *Rhizopus tonkinensis*, *M. javanicus*, *M. Mucedo* u. a.), das ist überhaupt der gewöhnliche Fall; natürlich liefern gärtüchtige Arten, die auch bei Luftabschluß und dann gewöhnlich in Hefeform spärlich wachsend noch fortkommen, auch unter diesen Umständen Gärungserscheinungen. Daß solche auch von Mycelien des *M. javanicus* ausgehen, gab ich früher (l. c.) bereits an; ebenso verhält sich seine „Hefe“. Gerade im Einhornschen Gärungssaccharometer läßt sich gut zeigen, daß, bevor überhaupt Knospungserscheinungen eintreten, die Gärung längst im Gange ist. Das gilt ebenso für *M. spinosus*, welcher nach der Literatur eine „gärungserregende Kugelhefe“ erzeugen soll. Gleichzeitig konnte ich konstatieren, daß auch *M. Rouxii* unter diesen Umständen spärlich sprossende Zellen erzeugt, dagegen bislang nicht der gärtüchtige *Rhizopus tonkinensis*, ebensowenig *Rh. nigricans* und *Mucor Mucedo*, von welchen beiden das auch lange bekannt ist. Eine Versuchsreihe sei hier wiedergegeben; Aussaat war eine Mycelflocke aus Reinkultur in ungehopfter verdünnter Bierwürze, Verschuß des sterilen Saccharometers durch Wattepfropf, Temperatur 20°.

	Nach 6 Tagen	Nach 14 Tagen	Nach 20 Tagen
1. <i>M. javanicus</i> Wehm.	geschlossener Saccharometer-Schenkel ganz mit Gas gefüllt	seit Tagen mit Gas überfüllt	wie vorher; Gasentbindg. dauert noch fort
2. <i>M. Rouxii</i> (Calm.) Wehm.	Schenkel bis auf $\frac{1}{5}$ gefüllt		
3. <i>M. spinosus</i> v. Tiegh.	Spur Gas	Schenkel zu $\frac{3}{4}$ mit Gas gefüllt	Schenkel seit mehreren Tagen mit Gas überfüllt
4. <i>M. Mucedo</i> L.	0	0	0
5. <i>Rhizopus nigricans</i> Ehrenberg	0	Spur Gas ($\frac{1}{20}$)	Schenkel zu ca. $\frac{1}{4}$ mit Gas gefüllt
6. <i>Rh. tonkinensis</i> Vuillemin	0	Schenkel $\frac{2}{3}$ gefüllt	mit Gas überfüllt, noch Gasentbindung

1) Diesem Gedanken begegnet man auch noch in der neueren Literatur, es werden da also zwei nebeneinander verlaufende Vorgänge kausal verknüpft.

Die am Grunde des Verbindungsstückes zwischen Schenkel und Kugel sich entwickelnde graue, zusammengeballte, fädig-flockige Masse wurde zu verschiedenen Zeitpunkten unter den üblichen Vorichtsmaßregeln¹⁾ mikroskopisch untersucht. Sproßstadien fehlten dauernd bei den beiden *Rhizopus*-Arten, ebenso bei *M. Mucedo*, der in dieser Versuchsreihe überhaupt kein Gas gebildet hatte, solches also (wie andere Versuche mit positivem Ausfall zeigten) nicht regelmäßig tut. Bei den anderen 3 Arten (1—3) fehlten solche gleichfalls zunächst, die Mycelien waren unverändert oder nur in Kugelzellen (unverändert, auch auskeimend) zerfallen; erst nach 14—20 Tagen kamen solche zur Beobachtung, stets gemischt mit unveränderten oder zu zerfallenden Keimschläuchen auswachsenden Kugelzellen und Mycel. Am reichlichsten waren sie bei *M. javanicus*, spärlich bei *M. spinosus* und *M. Rouxii*.

Es ergibt sich also: Die Gärung setzt bei *M. javanicus* wie *M. Rouxii* lange vor Eintreten der Sprossungserscheinungen ein, diese selbst sind auch durchweg in der Minderzahl, so daß die Gärwirkung offenkundig gerade so gut von den übrigen Pilzelementen (Mycelstücke, Kugelzellen, auskeimende Kugelzellen) ausgeht, und ein gleichmäßiger Zerfall in knospende Zellen findet überhaupt nicht statt. Auch bei *M. spinosus* wie *Rh. tonkinensis* ist das Mycel das gärungserregende.

Gerade so verhalten sich nach anderen Versuchen *M. piriformis* A. Fischer, *M. hiemalis* Wehmer und *Rhizopus Oryzae* Went und *Pr. Geerl.*, auch hier geht die Gasbildung allein oder vorwiegend von teils in Kugelzellen zerfallenden submersen Mycelien aus. Ich betone dies, um dem auch noch in der neueren Literatur beliebten in den Vordergrundstellen einer „gärungserregenden Kugelhefe“ — als ob nicht der Pilz überhaupt Gärung erregen könnte — entgegenzutreten. Es ist wirklich die „Hefebildung“ bei dieser Erscheinung nebensächlich. Natürlich kann im übrigen die am Boden des Gefäßes liegende „Hefe“ den entstehenden Alkohol nicht in gleichem Maße weiter zersetzen (verbrennen), wie das an der Flüssigkeitsoberfläche bei mehr oder minder reichlichem Luftzutritt vegetierende Mycel, denn das ist doch schließlich nur der Anlaß zur Alkoholansammlung, mag der Alkohol nun durch das Plasma oder durch ein „Enzym“ abgespalten werden.

Gern hätte ich auch den vielgenannten *M. racemosus*, anscheinend ein Musterpilz, was Hefebildung betrifft, zum Vergleich herangezogen, konnte ihn — ich selbst besitze ihn nicht — aber leider nicht erhalten, auch im Králschen Laboratorium war er nicht vorrätig. Es scheint mir noch keineswegs ausgeschlossen, daß hier die Sache ähnlich liegt, eine Kausalverbindung zwischen Sproßform und Gärung also nicht besteht.

Wie schon die Versuche im Saccharometer zeigen, ist *M. javanicus* ein kräftiger Gärungserreger, die Art ist wohl unter den Mucorineen eine der gärtüchtigsten.

1) Gärungserregende Bakterien, auch *Saccharomyceten*, stören diese Versuche mit Vorliebe, Schlüsse aus derart infizierten Kulturen, mit denen offenbar auch Winkler (dieses Centralbl. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 721 u. f.) arbeitete, sind wertlos.

Nachdruck verboten.

Ueber die Bakterien im Kuheuter und ihre Verteilung in den verschiedenen Partieen des Melkens.

Von Dr. Ed. v. Freudenreich,

Vorsteher des bakteriologischen Laboratoriums der schweizerischen landwirtsch. Versuchs- und Untersuchungsanstalten.

In einer früheren Arbeit¹⁾ habe ich gezeigt, daß das Kuheuter, wie schon von Ward²⁾ nachgewiesen worden, gewöhnlich eine nicht unansehnliche Zahl von Bakterien beherbergt. Zwei weitere Fragen erregen nun unser Interesse. Woher kommen diese Bakterien, und in welcher Weise verlassen sie das Euter, d. h. wie verteilen sie sich auf die verschiedenen Portionen des Gemelkes?

Schon einige frühere Arbeiten, die zwar nicht die Infektion des Euters als solche zum Gegenstand haben, sondern mehr die aseptische Milchgewinnung, enthalten Daten, die zur Beantwortung der letzteren Frage dienen können. Als man nämlich die Wahrnehmung gemacht hatte, daß möglichst aseptisch gewonnene Milch stets Bakterien enthielt, so meinte man zunächst, daß es sich nur um eine Infektion der unteren Partieen des Zitzenkanals handle, und daß daher diese Bakterien nur in der zuerst entleerten Milch sich befänden. So stellten z. B. Backhaus und Appel³⁾ darüber Versuche an, indem sie verschiedene Portionen der gemolkenen Milch bakteriologisch untersuchten.

Das Euter, ebenso wie die Hände des Melkers wurden dabei desinfiziert. Sie fanden nun allerdings, daß die ersten Partieen der gemolkenen Milch am bakterienreichsten waren; in einigen Versuchen sogar zeigte sich die zuletzt entleerte Milch steril, d. h. wenigstens die paar Tropfen, die zu den Aussaaten gebraucht wurden.

Ich lasse hier die Tabelle folgen, in welcher die Verff. ihre Resultate zusammengefaßt haben.

Bakterien per Kubikcentimeter.					
		I.	II.	III.	IV. Portion
Kuh	No. 1	685	230	70	30
"	" 2	935	145	20	0
"	" 4	950	60	10	0
"	" 5	950	110	60	25
"	" 6	375	125	20	45
"	" 7	175	90	60	0
"	" 8	345	255	55	0

Als Mittelzahlen hätte man aus diesen Versuchen für die vier verschiedenen Portionen 630, 145, 42 und 10 Bakterien per Kubikcentimeter.

In einer früheren Versuchsreihe war die Abnahme, wenn auch

1) Diese Zeitschrift. Bd. X. p. 401.

2) Ward, A. R., The invasion of the udder by bacteria. (Cornell University Agricultural Experiment Station. Bulletin 178.)

3) Backhaus und Appel, Ueber aseptische Milchgewinnung 1903. (Berichte des landw. Institutes in Königsberg.)

deutlich, doch weniger stark ausgesprochen. Sie fanden nämlich 733, 500, 420 und 213 Bakterien per Kubikcentimeter in den vier verschiedenen Portionen.

Am zahlreichsten vertreten unter den gefundenen Bakterien war das *Bact. lactis acidi*; auch *B. aërogenes* war häufig anzutreffen, Kokken fanden sie in 20 Proz. der Fälle.

Da die Verff. in einigen Fällen sterile Milch am Ende des Melkens erhielten, so sind sie der Meinung, daß die Milch im Euter selber steril sei, daß dagegen in den Ausführungsgängen des Euters stets Bakterien anzutreffen seien. Letzteres ist wohl richtig. Ersteres aber steht im Widerspruch mit den Resultaten der zitierten Untersuchungen von Ward und mir selber über das Vorhandensein von Bakterien im Kuheuter.

H. L. Russell fand im Mittel 2800 Bakterien in der ersten und 330 in den letzten Portionen des Melkens. Am häufigsten fand er Milchsäurefermente¹⁾.

Harrison und Cunning²⁾ fanden ziemlich hohe Bakterienzahlen in allen Portionen der gemolkenen Milch, doch im allgemeinen auch mehr in den anfänglichen Portionen. Unter den gefundenen Bakterien waren nur wenige verschiedene Arten vertreten; am häufigsten fand sich (in 95 Proz. der Fälle) das *Bact. lactis acidi*. Außerdem fanden sie Kokken und einige Bacillen. Auch konstatierten die Verff., daß in dieser Beziehung zwischen den einzelnen Kühen, ja selbst zwischen den einzelnen Zitzen die größten Differenzen obwalten können.

Sie wiederholten auch die Versuche Wards und konnten seine Resultate bestätigen, ebenso wie diejenigen Fords³⁾, der gezeigt hat, daß die inneren Organe gesunder Tiere in 80 Proz. der Fälle bakterienhaltig sind. Diese Resultate sind nach ihrer Ansicht dazu angetan, es zweifelhaft erscheinen zu lassen, daß die Invasion des Euters durch Bakterien in jedem Falle von der Zitze aus stattfindet, wenn sie auch andererseits nicht beweisend genug seien, um behaupten zu dürfen, daß die im Euter gefundenen Bakterien auf dem Blut- oder Lymphwege dorthin gelangt seien.

Die drei neuesten Arbeiten auf diesem Gebiete sind diejenigen von Uhlmann⁴⁾, Lux⁵⁾ und Steiger⁶⁾, die unter der Leitung von Prof. Guillebeau arbeiteten.

Uhlmann beschäftigte sich besonders mit der Frage der Pforte der Invasion des Euters. Da gewöhnlich angenommen

1) Russell, H. L., Dairy bacteriology. p. 33.

2) Harrison, F. C. und Cunning, M., The bacterial flora of freshly drawn milk. (Journal of applied microscopy and laboratory methods. Rochester N. Y. Vol. VIII. p. 11.)

3) Ford, W. W., The bacteriology of healthy organs. (Transactions of the Association of American physicians. Vol. XV. 1900. p. 389.)

4) Uhlmann, O., Der Bakteriengehalt des Zitzenkanals. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXV. p. 224.)

5) Lux, A., Ueber den Gehalt der frischgemolkenen Milch an Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. p. 195.)

6) Steiger, P., Bakterienbefund bei der Euterentzündung der Kuh und der Ziege. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXV. p. 326.)

wird, daß der Zitzenkanal dieselbe bilde, und daß in demselben sozusagen ein Bakterienpfropfen entstehe, so suchte er durch zahlreiche Schnitte die Besiedelungsverhältnisse des Strichkanals mit Bakterien genau festzustellen. Auf Grund seiner Untersuchungen kommt Uhlmann zu dem Schlusse, daß der Zitzenkanal des normalen Euters unter allen Verhältnissen eine verschwindend kleine Menge Milch enthalte, daß aber in allen untersuchten Querschnitten Bakterien, und zwar hauptsächlich Kokken, vorkommen. Meistens war ihre Zahl klein, gelegentlich lagen im Bilde 100 und mehr Keime. Von einem das Lumen ausfüllenden Bakterienpfropfen könne man aber nicht sprechen.

Ich muß aber doch hinzufügen, daß Uhlmann vielfach die Gegenwart kleiner Milchrückstände in den Schnitten erwähnt, die dann zahlreiche Bakterien, selbst Kolonien solcher enthalten hätten. Ich glaube daher kaum, daß die Resultate dieser Arbeit zu gunsten einer Invasion durch die Blutbahn gedeutet werden können; das nachgewiesene stete Vorhandensein von Bakterien, oft in beträchtlichen Zahlen im Zitzenkanal, läßt nach meiner Ansicht eine aufsteigende Invasion als das Wahrscheinlichere erscheinen.

Lux hat in seiner sehr sorgfältigen Arbeit besonders den Bakterienreichtum der einzelnen Portionen des Melkens zum Gegenstand eingehender Studien gemacht. Das Melken wurde, um den Vorgängen in der Praxis sich möglichst anzupassen, ohne jede Asepsis vorgenommen und die Milch in Strahlen von 1—3 ccm in sterile Gläser aufgenommen, nämlich die drei ersten Strahlen bei Beginn des Melkens, dann ein fernerer Strahl in der Mitte und ein letzter am Ende des Gemelkes, worauf aus diesen verschiedenen Proben Platten angelegt wurden. Nach einigen orientierenden Versuchen wurde als Nährboden Milchgelatine gewählt, da sich dieselbe den anderen überlegen zeigte.

Ueber die Zweckmäßigkeit der Unterlassung jeder Reinigung des Euters kann man verschiedener Ansicht sein. Es ist richtig, daß man auf diese Weise ein der Wirklichkeit besser entsprechendes Bild erhalten muß, denn wer den Zustand, in welchem sich oft die Euter der Kühe bei dem Melken befinden, beobachtet hat, muß zu der Ueberzeugung gelangen, daß viele Bakterien in die Milch hineingeraten, die mit derselben als solcher gar nichts zu tun haben. Die Versuche von Lux werden uns daher Aufschluß geben über die Bakterien, die in der Marktmilch anzutreffen sind. Hat man dagegen speziell diejenigen Bakterien im Auge, die direkt aus dem Euter kommen, so ist es, nach meiner Ansicht, angezeigt, gröbere Schmutzteile vor dem Melken wenigstens durch Abwischen zu entfernen. Was nun zunächst die Arten der von Lux angetroffenen Bakterien betrifft, so sind es zunächst verflüssigende und nicht verflüssigende Kokken, die in überwiegender Menge auftreten, ein Resultat, das sich mit den meinigen deckt. Was das *B. lactis acidi* anbelangt, so sagt Lux, daß diese Form offenbar nur selten vorkam. *Coli-Bacillen* dagegen und *B. aërogenes*, die er voneinander nicht getrennt behandelt, fand

er in 9 Proz. der Fälle. Ich selber habe diese letzteren im Euter nie gefunden, auch nicht, mit einer Ausnahme, wie aus den so gleich so zu besprechenden Versuchen sich ergibt, in der mit Vorsicht direkt in sterilisierte Gläser gemolkenen Milch. Ich wäre daher geneigt, anzunehmen, daß es sich hier um eine Verunreinigung handelte, was ja leicht erklärlich wäre, da, wie erwähnt, in den Versuchen von Lux gar keine Reinigung des Euters vor dem Melken stattfand. Freilich sollen Backhaus und Appel, welche doch das Euter sorgfältig desinfizierten, auch das *Bact. lactis aërogenes* in der Milch angetroffen haben, so daß immerhin die Möglichkeit vorliegt, daß in verschiedenen Stallungen die Bakterienflora des Euters auch eine verschiedene sein dürfte. Dieses dürfte besonders bei vorhergehenden Euterentzündungen der Fall sein. Wir kommen später bei Besprechung meiner Versuche darauf zurück. Bezüglich des von Lux in einigen Fällen angetroffenen *B. prodigiosus*, den ich für meinen Teil nie auf meinen Platten hatte, dürfte wahrscheinlich auch an eine äußerliche Verunreinigung gedacht werden.

Was nun die Zahl der gefundenen Bakterien anbelangt, so sehen wir, daß in 5 von 6 Versuchsserien, mit einer Ausnahme, durchschnittlich mehr Bakterien in jedem der drei ersten Strahlen enthalten waren als am Ende des Gemelkes. Nur in einer Serie war das Gegenteil der Fall.

Ich lasse hier tabellarisch die Durchschnittszahlen der Untersuchungen von Lux folgen:

	I. Strahl	II. Strahl	III. Strahl	Mitte des Gemelkes	Ende des Gemelkes
I. Versuchsserie (Kühe) 60 Einzelversuche	753	491	1428	1556	367
II. Versuchsserie (Kühe) 100 Einzelversuche	1396	1637	2066	839	1020
III. Versuchsserie (Kühe) 30 Einzelversuche	1002	1900	1530	743	220
IV. Versuchsserie (Kühe) 30 Einzelversuche	1809	2326	1872	1357	3950
V. Versuchsserie (Ziege) 20 Einzelversuche	97	1020	495	409	61
VI. Versuchsserie (Ziege) 30 Einzelversuche	135	324	272	317	200
VII. Versuchsserie (Ziege) 45 Einzelversuche	539	640	912	360	385

Nehmen wir die durchschnittliche Keimzahl der drei ersten Strahlen zusammen, um Anfang, Mitte und Ende zu vergleichen, so hätten wir folgende Zahlen:

	Anfang des Gemelkes	Mitte des Gemelkes	Ende des Gemelkes
I.	890	1556	367
II.	1706	839	1020
III.	1444	743	220
IV.	2002	1357	3950
V.	534	409	61
VI.	243	317	200
VII.	697	360	385

Im allgemeinen hat also auch Lux mehr Bakterien in den anfänglichen Partien des Melkens als am Ende, jedoch tritt dieses

nicht so augenfällig hervor, wie in den Versuchen von Backhaus und Appel und in den meinigen. Im übrigen konstatiert man bei Durchsicht seiner Tabellen, daß die Milch der verschiedenen Tiere und der verschiedenen Zitzen recht beträchtliche Unterschiede aufweist; ja Lux glaubt, aus seinen Resultaten folgern zu dürfen, daß in dem Geäste der Milchgänge bakterienfreie und bakterienreiche Bezirke miteinander wechseln, und daß bei der Entleerung der Inhalt bald dieses, bald jenes Bezirkes vorrücke, ohne daß vorher eine Durchmischung eingetreten wäre. Ein Bakterienpfropfen sei im Zitzenkanal nicht vorhanden, daher sei der Keimgehalt der ersten 2 ccm genau wie derjenige aller folgenden Portionen abhängig von dem speziellen Keimreichtum desjenigen Milchganges, dessen Inhalt zufälligerweise zuerst entleert werde. Dieses beraube die Annahme einer aufsteigenden Infektion einer wichtigen Stütze. Diese Hypothese werden wir später bei der Besprechung meiner eigenen Versuche prüfen.

Die dritte der zitierten Arbeiten ist diejenige von Steiger „Ueber Bakterienbefunde bei der Euterentzündung der Kuh und der Ziege“. Bei Besprechung der Frage nach den Infektionswegen glaubt Verf. auf Grund seiner Versuche annehmen zu sollen, daß die Infektion nicht von außen statthabe, denn nie habe er durch Bepinselung der Zitzenmündung mit Mastitisbakterien eine Mastitis erzielen können, entgegen den positiven Resultaten Kitts. Der Umstand dagegen, daß man, wie seine Versuche zeigen, im Panseninhalte Kokken finde, die mit dem *Staphyl. mastitis* Guillebeau identisch seien, spräche für eine hämatogene Infektion. Ebenso sei auch die hämatogene Infektion des Euters durch andere Bakterien wahrscheinlich gemacht, weil die in der normalen Milch gefundenen Bakterien, meist Kokken, ebenfalls im Panseninhalte zu finden seien. Wir werden diese Resultate später noch besprechen.

Meine eigenen Versuche habe ich in 4 Serien eingeteilt. Die erste Versuchsreihe betrifft 10 Kühe unserer Anstalt, deren Milch zu 3 verschiedenen Malen (bei einer Kuh noch öfters), und zwar 2mal bei Heufütterung und 1mal bei Grasfütterung bakteriologisch untersucht wurde. Zur Herstellung der Platten wurden 1—2 Tropfen Milch verwendet; ich brauchte dazu Pipetten, die genau 20 Tropfen auf 1 ccm geben. Mehr Milch kann man nicht gut einimpfen, da sonst die Gelatine zu sehr getrübt wird. Es ist begreiflich, daß unter diesen Umständen die Platten oft steril bleiben können, ohne daß dieses eine absolute Keimfreiheit der ganzen betreffenden Milchportion zu bedeuten hätte.

Bei der ersten Versuchsreihe habe ich auch anaerobe Kulturen bei 35° angelegt, Schottenagarschüttelkulturen nach Dr. Burri, um etwaige Anaeroben, wie Buttersäurebacillen etc. zu isolieren. Da dieses nun indessen nie gelang, beschränkte ich mich in der Folge auf das Gießen von Gelatineplatten. Die Gelatine, die zur Verwendung kam, war gewöhnliche Peptongelatine, weil verflüssigende Organismen sich in derselben besser entwickeln als in der Schottengelatine und sie auch für das *B. lactis acidii* einen hin-

reichend guten Nährboden abgibt. Im großen und ganzen stimmten die Resultate der Agar- und Gelatineplatten ziemlich gut miteinander. Nur hier und da zeigen sich nicht immer leicht zu erklärende beträchtliche Unterschiede. Verschiedene Faktoren mögen da mitgewirkt haben, so der mehr aërobe oder anaërobe Charakter der betreffenden Organismen, der Unterschied des Nährbodens, das Vorhandensein von Bakterienklumpen in der Milch, die sich leichter oder schwieriger verteilen. Unterschiede in der Temperatur des Agars und der Gelatine vor dem Plattengießen können auch Unterschiede in der Verteilung der Keime bedingen. Zuweilen geben die Tabellen nicht verflüssigende Kokken für die Gelatine, verflüssigende dagegen für den Agar. Dieses mag daher rühren, daß die Agarkolonieen behufs Feststellung ihres Verflüssigungsvermögens auf Gelatine verimpft wurden und lange beobachtet werden konnten. Bei den Gelatineplatten dagegen wurde das Verflüssigungsvermögen nach dem Stande der Platten zur Zeit der Untersuchung bestimmt, wobei sehr langsam verflüssigende wohl hier und da als nicht verflüssigende gezählt worden sein mögen. Am auffallendsten war der Unterschied zwischen Gelatineplatten und Agarröhren bei Kuh Kreuz, Zitze 3 und Kuh Liebe, Zitze 1, 1. Versuchsreihe. Während auf ersteren nur wenig Kolonieen zu sehen waren, gaben letztere fast unzählbare Kolonieen. Es handelte sich aber um einen Coccus, der nur sehr langsam bei Zimmertemperatur wuchs und daher auf den Gelatineplatten zur Zeit der Untersuchung noch nicht zu sehen war. Die Milch jeder Zitze wurde für sich untersucht, im Anfange, in der Mitte und am Ende des Melkens, indem 2—3 Strahlen in eine steriles Reagenzglas aufgefangen wurden. Von einer wirklichen Desinfektion des Euters wurde Abstand genommen, denn von früheren Versuchen her wußte ich, daß ein bloßes Reinigen mit sterilem Wasser und Seife in dieser Beziehung dieselben Dienste leistet und ein förmliches Desinfizieren bei so vielen Versuchen schwer durchführbar gewesen wäre. In den Versuchen No. 1 und 3 dieser ersten Versuchsserie wurde das Euter nur mit sterilen Tüchern abgewischt. In den Versuchen No. 2 wurden sie vorerst mit sterilem Wasser und Seife behandelt. Wenn die Zitzen ganz sauber waren, wurde überhaupt nichts gemacht. Bloßes Abwischen scheint in den meisten Fällen zu genügen.

Eine zweite Versuchsserie hatte die Kühe einer hiesigen Bauernstallung zum Gegenstande.

Zu der dritten Versuchsserie wurden 2 Kühe unserer Anstalt herangezogen und mit leicht kenntlichen Bakterien (*B. prodigiosus*) oder Schlempe gefüttert, um zu sehen, ob die verfütterten Bakterien in die Milch übergehen würden.

Endlich wurden in einer vierten Versuchsserie einige Kühe trocken gemolken, um den Einfluß dieser Art des Melkens auf die Bakterienzahl zu untersuchen. Die Tabellen resumieren die diesbezüglichen Resultate.

Auch meine Versuche haben, wie die Tabellen zeigen, mit wenigen Ausnahmen ergeben, daß die erste Portion keimreicher ist

als die folgenden. Die Durchschnittszahlen¹⁾ sind für die 4 Versuchsserien folgende gewesen:

	Anfang	Mitte	Ende
I. Serie	1 725	674	667
II. "	15 563	2477	1004
III. "	4 349	202	352
IV. "	4 386	2012	1056

Als Mittel aller Versuche zusammengekommen hätten wir:

Anfang	Mitte	Ende
6505	1341	769

In der ersten Serie (126 Einzelversuche²⁾ hatte man in 58 Fällen mehr Bakterien im Anfang als am Ende, in 42 Fällen trat das Gegenteil ein, in 26 Fällen war die Zahl der Bakterien die gleiche im Anfang und am Ende. Letzteres tritt besonders dann ein, wenn die Milch sehr keimarm ist und die Platten keine oder nur eine oder 2 Kolonien geben.

In der zweiten Serie (36 Versuche) war der Anfang keimreicher in 32 Fällen, in 4 Fällen war die letzte Portion bakterienreicher.

In der dritten Serie (35 Versuche) war in 13 Fällen der Anfang keimreicher, in 18 Fällen die letzte Portion, während in 4 Fällen kein Unterschied im Keimgehalt der ersten und der letzten Portion zu konstatieren war.

In der letzten Serie endlich (24 Versuche) hatte man in 16 Fällen mehr Keime im Anfang, in 4 Versuchen am Ende, in 2 Versuchen war die Keimzahl für Anfang und Ende die gleiche; in 2 Versuchen konnte dieses Verhältnis nicht bestimmt werden, weil die Platten ganz verflüssigt worden waren, so daß eine Keimzählung nicht möglich war.

Auf den ersten Blick mag es auffallen, daß in so vielen Fällen die Keimzahl am Ende höher war als im Anfang und in der Mitte. Prüft man diese Fälle jedoch näher, so sieht man, daß in den meisten derselben diese höhere Keimzahl mehr scheinbar als wirklich ist. Wenn man nämlich meine Tabellen durchsieht, so sieht man, daß es sich meist um solche Fälle handelt, in denen die Milch überhaupt sehr keimarm war. In solchen Fällen hat man vielleicht bloß 1 oder 2 Kolonien auf der Platte, oder auch gar keine, was dann höchstens 10 oder 20 Keimen per Kubikcentimeter entspricht (bei Einsaat von 2 Tropfen). Hat man nun am Ende eine Kolonie mehr als im Anfang, so ist das für die Statistik ein Fall, in welchem die Endportion als keimreicher notiert wird als die Anfangsportion, und doch ist hier von einem eigentlichen Anwachsen der Bakterien gegen das Ende des Melkens gar keine Rede. Das Gleiche wäre umgekehrt zu bemerken bezüglich der Fälle, in welchen die Keimzahl überhaupt sehr niedrig ist und die

1) Bei der Berechnung dieser Durchschnittszahlen mußte ich diejenigen Versuche weglassen, bei denen z. B. die anfängliche Keimzahl nicht bestimmt werden konnte, weil die Kolonien nicht zählbar waren.

2) Als Einzelversuch bezeichne ich die Bestimmung der Keimzahl in den verschiedenen Melkportionen (Anfang, Mitte und Ende) einer einzelnen Zitze.

anfängliche Bakterienzahl die Keimzahl am Ende nur in ganz unbedeutendem Maße übersteigt. Am beweisendsten sind diejenigen Versuche, in denen die größere anfängliche Keimzahl deutlich zu Tage tritt. Ferner gibt es auch einige Fälle, in denen das Ende ganz bedeutend bakterienreicher ist als der Anfang, in denen man aber wegen ihrer Seltenheit sich des Eindruckes kaum erwehren kann, daß da eine zufällige Infektion vorliegt. Am Ende des Melkens werden nämlich die Hände des Melkers recht schmierig, und daß Schmutztröpfchen die Zitze hinuntergleiten könnten, ist durchaus nicht ausgeschlossen. So z. B. bekommt man diesen Eindruck, wenn man sieht, daß bei der Kuh Blume die Zitze 1 im Anfang 20 Keime per Kubikcentimeter gibt, in der Mitte keine und am Ende plötzlich 1500. Auf diesen Punkt kommen wir jedoch noch später zurück bei Besprechung der Infektionswege.

Im übrigen zeigen nicht bloß die verschiedenen Kühe, sondern auch die einzelnen Zitzen die größten Verschiedenheiten. Neben Kühen, die sehr bakterienarme Milch, wenigstens aus einigen Zitzen, und zwar durch mehrere Versuche hindurch liefern, z. B. Blume, Falke, Rote u. s. w., sieht man Kühe, z. B. in der zweiten Versuchsreihe, die eine viel bakterienreichere Milch haben. In diesen Fällen besonders ist der Bakterienreichtum der anfänglichen Portionen deutlich. Sehr häufig hat man da Tausende von Bakterien per Kubikcentimeter in der Anfangsportion, worauf gewöhnlich die Zahl abnimmt, so daß am Ende nur noch relativ sehr wenige Bakterien vorhanden sind. In solchen Fällen besonders gewinnt man den Eindruck, daß, wenn auch nicht ein förmlicher Bakterienpfropf im Zitzenkanal sich gebildet hat, doch hier und vielleicht auf den Wandungen der Zisterne Bakterien sich angesammelt haben, die durch die ersten Strahlen weggeschwemmt werden.

Was nun die vorgefundenen Bakterien anbelangt, so findet man in überwiegender Anzahl verflüssigende Kokken. Es sind dieses verflüssigende Kokkenarten, die ich in einer früheren Arbeit ¹⁾ gemeinschaftlich mit Herrn Thöni bereits ausführlich behandelt habe. Sie bilden bald gelbliche, bald weißliche Kolonien und treten jedenfalls in verschiedenen Varietäten auf. Ganz die gleichen Kokken sind auch von Guillebeau, Barthel, Lux u. a. beschrieben worden. Daneben begegnet man auch nichtverflüssigenden Kokken, die mit dem *Galactococcus versicolor fulvus* und *albus* Guillebeau wohl zum Teil identisch sind. Von einer Statistik über das mehr oder weniger häufige Vorkommen einer jeden dieser Varietäten habe ich Abstand genommen, weil sie oft sehr schwer voneinander zu unterscheiden sind. Es gibt viele verflüssigende Kokken, die nur sehr langsam verflüssigen, besonders wenn sie noch im Innern der Gelatine eingeschlossen sind. Man ist daher versucht, wenn man nach einigen Tagen die Abzählung der Kolonien vornimmt, sie als nichtverflüssigend anzusehen. Oft sieht man aber, wenn man die Kolonie von der Platte auf eine Gelatineröhre überträgt, daß sie zuweilen nach längerer Zeit doch

1) Centr. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. p. 305.

verflüssigt. Bei so zahlreichen Versuchen ist es aber unmöglich, eine jede Kolonie abzuimpfen. Meine Angaben in den Tabellen, daß in dem betreffenden Versuche nichtverflüssigende Kokken vorgefunden wurden, müssen daher so verstanden werden, daß zu dieser Zeit wenigstens noch keine Verflüssigung bemerkbar war. Jedenfalls kann man aber sagen, daß die verflüssigenden Kokken viel zahlreicher sind als die nichtverflüssigenden. Auch einem nichtverflüssigenden Bakterium begegnet man oft. Dieses sind die drei Hauptarten, denen ich am häufigsten begegnet bin. Was das *Bacterium lactis acidii* anlangt, welches nach Angabe anderer Forscher so häufig in der frisch gemolkenen Milch anzutreffen sein soll, so haben meine Versuche in dieser Richtung ganz eigentümliche Resultate zu tage gefördert. In der Milch der meisten Kühe fand sich dasselbe überhaupt gar nicht. Bei 3 Kühen (Liebe, Zitze 4, Vers. 1, Agarplatten; Taube, Zitze 3, Vers. 1, Agarplatten; Zwerg, Zitze 1, Vers. 3) habe ich vereinzelte Kolonien von *Bacterium lactis acidii* gefunden. Bei der Kuh Schöne, dagegen war das Verhältnis ein ganz anderes. Zitze 1 und 4 gaben eine an Bakterien nicht sehr reiche Milch; in derselben fand man (mit Ausnahme des letztes Versuches) nur die gewöhnlichen Kokken. Zitze 2 und 4 dagegen gaben sozusagen nur das *Bacterium lactis acidii* und zwar meist in sehr großen Mengen. Das Sonderbare dabei war, daß *Bacterium lactis acidii* während des Melkens oft sogar an Zahl zunahm, wie folgende Tabelle zeigt:

Zitze 2.				
		Anfang	Mitte	Ende
Versuch 1		280	950	1360
" 2		3460	4620	5000
" 3		200	3230	910

Zitze 4.				
Versuch 1		20	20	40
" 2		880	1340	1920
" 3		80	190	130

Es schien mir dieses so auffallend, daß ich den Versuch 3mal wiederholte und zwar ließ ich diesmal in 4 Portionen melken. Das Resultat war noch ausgeprägter:

Zitze 2.				
	Anfang	II. Portion	III. Portion	Ende
Versuch 4	1 500	4 300	7 060	15 000
„ 5	320	7 600	4 170	1 950
„ 6	2 570	4 650	4 600	2 260

Zitze 4.				
Versuch 4	1 170	3 800	11 400	12 000
„ 5	580	6 300	6 500	1 220
„ 6	über 15 000	über 20 000	18 000	10 000

In Versuch 6 fand man neben *Bacterium lactis acidii* auch einzelne Kokkenkolonien, aber verhältnismäßig sehr wenige. In den anderen Versuchen war *Bacterium lactis acidii* stets allein. Merkwürdig ist es, daß im Versuch 6 die Zitze 3, die in den fünf vorhergehenden Versuchen nur Kokken gegeben

hatte, auf einmal große Mengen *Bacterium lactis acidii* gab. Da bei Kuh Schöne das *Bacterium lactis acidii* während des ganzen Melkens aus den gleichen Zitzen in so großen Mengen gewonnen werden konnte, so hat es den Anschein, als ob dieser Mikroorganismus im stande sei, ganze Viertel zu infizieren. Trotz der Gegenwart dieses Milchsäurefermentes hatte die Milch nicht etwa einen höheren Säuregrad und gerann auch nicht zu schnell. Es wäre nun möglich, daß Harrison und Backhaus, die so viel *Bacterium lactis acidii* fanden, gerade viel solche Kühe untersucht haben. Auf andere Weise kann ich mir unsere in dieser Hinsicht so verschiedenen Resultate kaum erklären.

Etwas Aehnliches zeigte sich bezüglich der Streptokokken. In der 1. Versuchsreihe fand ich sie nur bei zwei Kühen, bei Taube und Blume, in geringer Anzahl und zwar nur in den Agarschüttelkulturen. In der 2. Versuchsserie aber (Bauernstall) traf ich auf einige Kühe, die sich in dieser Beziehung ganz eigentümlich verhielten. Die Kuh Jungferli gab aus der 2. und 3. Zitze verflüssigende Kokken mit Streptokokken gemengt, die Kuh Fink lieferte aus Zitze 2 sehr große Mengen Streptokokken und zwar in 2 verschiedenen Versuchen.

	Anfang	Mitte	Ende
Versuch 1	34 000	3340	1110
„ 2	18 900	2250	1510

Die Kuh Storch vollends gab ganz unglaubliche Mengen dieser Bakterienart und zwar aus allen 4 Zitzen.

Zitze	Anfang	Mitte	Ende
1	50—60 000	3 500	1200
2	50—60 000	4 080	2700
3	über 10 000	21 000	3610
4	mindestens 120 000	Platte verflüssigt durch einen Proteus	6140

Eigentümlich ist nun, daß letztere Kuh 5—6 Wochen vorher an einer Euterentzündung gelitten hatte. Von den zwei anderen Kühen hatte die eine (Fink) einige Wochen vorher abortiert, die andere (Jungferli) gekalbt.

Eine vierte Kuh dieser Versuchsreihe, Zwerg, lieferte ebenfalls ein ganz unerwartetes Resultat. In zwei Versuchen enthielt ihre Milch nur Kokken, im 3. Versuch gab Zitze 3 auf einmal unzählige Streptokokken. Diese Kuh war nun bei dem 3. Versuche seit einigen Tagen krank gewesen und starb tags darauf. Bei der Sektion wurde ein Stück Draht im Herz gefunden, das vom Magen aus dahin gelangt war. Die Kuh hatte auch starkes Fieber gehabt und unzweifelhaft lag eine Infektion vor. Die Streptokokken werden in diesem Fall wohl auf hämatogenem Wege in das Euter gelangt sein.

Bei Taube und Blume waren zu keiner Zeit krankhafte Erscheinungen notiert worden. Ihre Milch enthielt überhaupt auch nur wenige Streptokokken.

Einige dieser Streptokokken wurden auf Kaninchen verimpft, zeigten sich aber nicht virulent.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Studien über die flüchtigen Fettsäuren im Käse nebst Beiträgen zur Biologie der Käsefermente.

Von Dr. Orla Jensen,

Vorstand der schweizerischen milchwirtschaftlichen Versuchsanstalt.

(Fortsetzung.)

3) Die in der nächstletzten Kolumne der Tabelle aufgeführten Säurezahlen zeigen, daß wenigstens einige der untersuchten Käse flüchtige Säuren, die nicht von der Fettsäure Spaltung herrühren, enthalten. Diese Säurezahlen sind nämlich durch Umrechnen der Titer der durch Destillation der Käse mit verdünnter Schwefelsäure gewonnenen flüchtigen Fettsäuren auf das Fett entstanden, und da, wie in meiner Arbeit über das Ranzigwerden der Butter¹⁾ gezeigt wurde, die höchst mögliche Säurezahl der flüchtigen Fettsäuren des Butterfettes nur 70 beträgt, so müssen Fette mit einer Säurezahl der flüchtigen Fettsäuren, welche viel größer ist, ja bei einem Magerkäse sogar 700 übersteigt, beträchtliche Mengen freier flüchtiger Fettsäuren enthalten, die nicht von einer hydrolytischen Fettsäure Spaltung herrühren können.

4) Die in der nächstletzten Kolumne der Tabelle aufgeführten Säurezahlen zeigen ferner, daß die soeben erwähnten freien flüchtigen Säuren im Gegensatze zu denjenigen, die aus dem Fette entstanden sind, am reichlichsten im Inneren der Käse vorkommen.

Ueber die Ursachen der im Käse stattfindenden Fettsäure Spaltung ist man noch sehr im Unklaren. Duclaux hat geglaubt, daß das Käsefett einfach durch das gebildete Ammoniak verseift werde; die Unhaltbarkeit dieser Hypothese hat aber Laxa²⁾ dadurch gezeigt, daß er Milchfett mit stärkeren Ammoniaklösungen, als je im Käse vorkommen können, längere Zeit bei Zimmertemperatur behandelte, ohne daß es im geringsten verseift wurde.

Da die Jodzahlen des Käsefettes nach den Untersuchungen von Kirsten³⁾ und später von Windisch⁴⁾ sich während der Käsereifung nicht wesentlich ändern, ist eine Oxydation als Ursache der Fettsäure Spaltung ausgeschlossen, eine Tatsache, die ich in anderer Weise habe bestätigen können. Fände nämlich ein (natürlicherweise von außen nach innen schreitender) Oxydationsprozeß des Fettes während der Käsereifung statt, so müßte die Jodzahl des Fettes in den äußeren Schichten eines gereiften Käses kleiner als diejenige des Fettes in der inneren Masse desselben Käses sein. Die Jodzahlen in der vorstehenden Tabelle zeigen indessen eher das Gegenteil. Die Möglichkeit einer Oxydation des Käsefettes wäre auch von vornherein sehr gering, indem die bei dem Reifungsprozeß entwickelte Kohlensäure, jedenfalls solange

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 11.

2) Ueber die Spaltung des Butterfettes durch Mikroorganismen. (Arch. f. Hyg. 1902. p. 142.)

3) l. c.

4) l. c.

die Gärungen noch lebhaft verlaufen, einen Ueberdruck im Käse hervorruft, der das Eindringen des Sauerstoffes erschweren muß, und selbst wenn etwas Sauerstoff hineindringen würde, müßte derselbe schon in den äußersten Schichten von den vielen im Käse gedeihenden Bakterien verbraucht werden. Ferner wirkt der Sauerstoff nur bei höheren Temperaturen oder bei direktem Sonnenlicht auf die Fette oxydierend ein, und diese zwei Faktoren werden ja bei der Käsereifung normalerweise immer gemieden. Daß die im Käse gebildete Kohlensäure eine schwache Fettspaltung hervorruft, ist dagegen nicht zu bezweifeln. Ritsert¹⁾ hat nämlich gezeigt, daß die Kohlensäure auch im Dunkeln die Fette zu spalten vermag unter Bildung eines talgigen Geschmacks, eines Geschmacks, den man bei fetten Hartkäsen (z. B. Goudakäse) nicht selten antrifft²⁾. In den Hartkäsen, in welchen man gewöhnlich keine fettspaltenden Mikroorganismen findet³⁾, ist es sogar anzunehmen, daß die Kohlensäure während der ersten Reifungsperiode der einzige normale fettspaltende Faktor sei.

Bei Käsen, die Schimmelpilze, welche bekanntlich ein hohes Fettspaltungsvermögen besitzen, beherbergen, ist die stattfindende Fettspaltung natürlicherweise in erster Linie diesen Mikroorganismen zuzuschreiben.

Mein Befund, daß die Fettspaltung auch bei den Hartkäsen in den äußeren Schichten größer als in der inneren Masse ist, läßt es indessen als sicher erscheinen, daß auch bei diesen Käsen die an der Oberfläche gedeihenden Mikroorganismen sich an der Zersetzung des Käsefettes beteiligen und wahrscheinlich die in den späteren Stadien der Käsereifung rascher verlaufende Fettspaltung verursachen. Da die durch die Fettspaltung freigewordenen flüchtigen Säuren, wie Buttersäure, Capronsäure, Caprylsäure und Caprinsäure, sich durch einen sehr scharfen Geruch und Geschmack auszeichnen, ist es anzunehmen, wie es auch bereits Duclaux getan hat, daß die Fettspaltung eine Hauptrolle bei der Bildung des Aromas im Käse spielt. Gleichzeitig mit den Fettsäuren muß auch der andere Hauptbestandteil der Fettstoffe, nämlich das Glycerin, frei werden. Merkwürdigerweise ist es selbst in solchen Käsen, in welchen eine starke Fettspaltung stattgefunden hat, nicht gelungen, Glycerin nachzuweisen. Es ist deshalb anzunehmen, daß dieser Körper weiter zersetzt wird und somit möglicherweise seinerseits zur Bildung von aromatischen Produkten dient.

Endlich sind noch die Zersetzungen des Milchzuckers zu be-

1) Untersuchungen über das Ranzigwerden der Fette. (Inaug.-Diss.) Bern 1890.

2) Die CO_2 braucht jedoch nicht die alleinige Ursache dieses Geschmacks zu sein, denn wie Prof. Storch in Kopenhagen mir gütigst mitgeteilt hat, können gewisse Milchsäurefermente einen talgigen Geschmack in Butter und daher vielleicht auch in Käsen hervorrufen.

3) In den meisten Käsesorten ist in den allerersten Tagen *Bacillus fluorescens liquefaciens* bisweilen sehr reichlich vertreten, und obwohl er bald von den Milchsäurefermenten unterdrückt wird, ist es doch nicht ganz ausgeschlossen, daß er oder seine Enzyme eine geringe Fettspaltung hervorrufen könnten.

sprechen. Unter Einwirkung der massenhaft im Käse vorkommenden Milchsäurefermente wird der Milchzucker in wenigen Tagen fast vollständig in Milchsäure umgebildet. Da bei der Milchsäuregärung kleine Mengen Essigsäure, Ameisensäure, Kohlensäure, Alkohol und Aceton entstehen, ist es anzunehmen, daß diese Stoffe im Käse vorkommen. Mit den flüchtigen Säuren werden wir uns später beschäftigen, hier soll nur erwähnt werden, daß in der Tat eine Spur Alkohol, sowie eine Spur Ester der flüchtigen Säuren sich fast in jedem Käsedestillat nachweisen lassen. Diese verschiedenen Produkte der Milchsäuregärung und nicht am wenigsten die Milchsäure selber verleihen der Käsemasse einen säuerlichen erfrischenden Geschmack, der besonders für solche Käse, die verhältnismäßig jung gegessen werden, von allergrößter Bedeutung ist. Die Milchsäure, die zum größten Teil mit Kalk und Parakasein der Käse salzartige Verbindungen eingeht, braucht indessen kein Endprodukt zu sein. Schon 1844 haben Pelouze und Gélis¹⁾ gezeigt, daß milchsaure Kalk eine Buttersäuregärung erleiden kann, und Fitz²⁾ hat gezeigt, daß nicht nur Buttersäure, sondern auch Capronsäure, normale Valeriansäure, ja unter gewissen Bedingungen sogar Propionsäure und Essigsäure daraus entstehen können. L. Manetti und G. Musso³⁾ haben es wahrscheinlich gemacht, daß in reifen Käsen, besonders in Weichkäsen, nur wenig Milchsäure vorkommt; wir werden später sehen, was aus derselben geworden ist.

Aus dieser kurzen Uebersicht geht hervor, daß die bis jetzt bekannten Geruch- und Geschmackstoffe der Käse außer Ammoniak und einigen schwer nachweisbaren stickstoffhaltigen Substanzen fast alle zu den flüchtigen Fettsäuren gehören, und daß wir erwarten dürfen, unter letzteren C_1 , C_2 , C_3 , C_4 , C_5 , C_6 , C_8 und C_{10} im Käse anzutreffen. Um über die im Käse vor sich gehende Aromabildung, welche der Ausgangspunkt der vorstehenden Erörterungen war, Klarheit zu gewinnen, wird es daher von besonderem Interesse sein, die flüchtigen Fettsäuren der verschiedenen Käsesorten kennen zu lernen und zu untersuchen, aus welchen Bestandteilen der frischen Käsemasse und von welchen Fermenten sie gebildet werden. Die Lösung dieser Aufgabe ist das Ziel vorliegender Arbeit.

Analytische Methoden.

Um Durchschnittsproben der zu untersuchenden Käse zu erhalten, wurde von den runden Hartkäsen ein großer Ausschnitt mit dem Reibeisen fein zerrieben und die zerriebene Masse gut durchmischt. Von den größeren Weichkäsen wurden ebenfalls ein großer Ausschnitt und von den kleineren Weichkäsen mehrere derselben in einem Mörser zu einer homogenen Masse verrieben. Bei diesem

1) *Annales de chimie et de physique*. T. III. No. 10. p. 434.

2) *Ueber Spaltpilzgärungen*. (Berichte der deutschen chem. Gesellschaft. Bd. XI. 1878. p. 51 u. p. 1898. Bd. XII. 1879. p. 479. Bd. XIII. 1880. p. 1310 und Bd. XIV. p. 1064.)

3) *Landwirtschaftliche Versuchstationen*. 1878. p. 211.

Verfahren wurden die Rindenschicht und die innere Masse immer getrennt behandelt. Für die Bestimmung der flüchtigen Säuren wurden 100 g der durchgemischten Käsemasse nach Zusatz von 200 ccm ausgekochtem Wasser und der nötigen Menge Schwefelsäure (1,5—2 ccm H_2SO_4) mit Wasserdämpfen destilliert, bis 1 l übergegangen war. Für die Entwicklung der Wasserdämpfe wurde gewöhnliches Leitungswasser gebraucht, welches vorher mit Schwefelsäure ausgekocht wurde, um alle Kohlensäure zu vertreiben. Um das Anbrennen zu vermeiden, wurde die Mischung von Käse und Wasser erst dann direkt erwärmt, wenn sie durch Einleiten von Wasserdämpfen eine vollständige Emulsion bildete.

Das so gewonnene Destillat wurde mit Barytwasser titriert, eingeeengt, durch Filtrieren von Spuren von BaCO_3 etc. befreit und nach den später zu beschreibenden Methoden qualitativ und quantitativ untersucht. Destilliert man dieselbe Käsemasse wiederholt mit Wasserdämpfen, so findet man nicht nur im zweiten Liter des Destillates, sondern auch in den folgenden Litern eine kleine Menge Säure. Dieselbe besteht jedoch nicht aus Fettsäuren (der zweite Liter enthält höchstens eine Spur Ameisensäure), sondern aus Milchsäure. Diese letztere ist bekanntlich mit Wasserdämpfen schwach flüchtig¹⁾, sie vollständig abzudestillieren, ohne überhitzte Wasserdämpfe zu verwenden wäre aber eine endlose Arbeit.

Um während der Destillation eine Zersetzung der Käsebestandteile, bei welcher event. flüchtige Säuren entstehen könnten, zu vermeiden, schien es angezeigt, statt Schwefelsäure eine organische nicht flüchtige Säure, wie z. B. Weinsäure, zu verwenden. Vergleichende Versuche mit Schwefelsäure und Weinsäure lieferten indessen übereinstimmende Resultate und zeigten, daß erstere vorzuziehen sei, weil sie den Käsestoff vollständiger löst, und man dadurch leichter dem Anbrennen desselben entgeht. Selbst in großem Ueberschuß (z. B. 5mal die nötige Menge) scheint Schwefelsäure aus der Käsemasse keine flüchtigen Säuren abzuspalten, was auch zu erwarten war, denn die Zersetzung der Eiweißstoffe mit Säuren unterscheidet sich bekanntlich von derjenigen mit Alkalien gerade dadurch, daß keine flüchtigen Säuren gebildet werden. Der einzige Milchbestandteil, welcher bei Destillation mit verdünnter Schwefelsäure eine Spur flüchtiger Säure (Ameisensäure) liefert, ist der Milchzucker, da dieser aber im reifen Käse nicht vorkommt, läuft man bei unseren Untersuchungen keine Gefahr in dieser Hinsicht. Die für die Destillation nötige Menge Schwefelsäure kann man mittels Kongorotpapier feststellen; dasselbe soll aber auch nach Erwärmen der Käsemasse mit der Schwefelsäure blau bleiben, sonst geht nicht die ganze Menge der niedrigsten Fettsäuren in das Destillat hinüber.

In den folgenden Untersuchungen bezeichne ich der Kürze halber mit „Destillationszahl“ (D.Z.) die zur Neutralisierung des aus 100 g Käse in beschriebener Weise gewonnenen Destillates nötige

¹⁾ Pserzeltus, *Annales de chimie et de physique*, T. II. 1832. No. 46. p. 420.
— Müller, *Bull. de la soc. chim. de Paris*, T. III. 1876. No. 15. p. 1206.

Anzahl Kubikcentimeter $\frac{1}{10}$ Normallauge. Da die Titrierung von schwachen Säuren in großen Verdünnungen indessen nicht genau ist, so wird die Destillationszahl nicht durch den direkten Titer des Käsedestillates, sondern durch die Summe der Titer der nach dem später zu beschreibenden Duclauxschen Verfahren gemachten Fraktionen ausgedrückt. Um die Untersuchungen zu vereinfachen, werden Capryl- und Caprinsäure nicht berücksichtigt. Diese Säuren kommen nur in Käsen, in welchen eine starke Fettspaltung stattgefunden hat, in merkbaren Mengen vor und werden teils als freie Säure, teils als Barytsalz vom eingeeengten Destillate durch Filtrieren entfernt. Die Entfernung von Caprylsäure gelingt jedoch nie vollständig, weshalb diese Säure bisweilen störend auf die quantitativen Analysen einwirkt.

Zum qualitativen Nachweis der flüchtigen Fettsäuren gibt es eine Anzahl Reaktionen, die, wenn eine Säure allein in reinem Zustand vorliegt, recht charakteristisch sind, denen man dagegen nur geringen Wert beimessen kann, sobald viele Fettsäuren zusammen vorkommen. Zu diesen Reaktionen gehört in erster Linie der Geruch der Ester, sowie die verschiedene Löslichkeit der Barytsalze in Alkohol. Nach Luck¹⁾ soll buttersaurer Baryt in absolutem Alkohol 41mal leichter löslich als essigsaurer Baryt sein, und doch gelingt es nicht, diese zwei Salze mittels Alkohol zu trennen. Ist nämlich nur verhältnismäßig wenig essigsaurer Baryt vorhanden, so geht dieser auch mit in die Lösung, und ist verhältnismäßig viel von diesem Salze in der Mischung, so schließt es, indem es gelatinös aufquillt, die Hauptmenge des buttersauren Baryts ein. Nicht viel besser geht es mit der gewöhnlichen Reaktion auf Propionsäure. Nach Linnemann²⁾ soll, wenn wässrige Propionsäure mit überschüssigem Bleioxyd im Wasserbade eingedunstet wird, ein in kaltem Wasser leicht lösliches, in heißem Wasser aber schwer lösliches Salz von der Formel $3\text{Pb}(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2)_2, 4\text{PbO}$ gebildet werden. Zieht man daher dieses Salz mit wenig kaltem Wasser aus, so fällt dasselbe beim Kochen der Lösung nieder und löst sich wieder beim Erkalten. Diese Reaktion ist für reine Propionsäure recht charakteristisch, ein Teil (aber nur ein ganz geringer Teil) des propionsauren Bleis scheidet sich beim Kochen der konzentrierten Lösung in feinen Nadeln aus, die sich beim Abkühlen nach einiger Zeit wieder lösen. Ganz klar wird die Lösung jedoch nicht mehr, weil sich beim Kochen an der Luft auch basische Bleikarbonate gebildet haben. Aus diesem Grunde zeigen die Lösungen der basischen Bleisalze der anderen flüchtigen Fettsäuren auch Trübungen, ja bilden sogar dicke Häute beim Erhitzen, die sich beim Abkühlen zwar nicht mehr lösen, aber in einem Gemisch von flüchtigen Fettsäuren den Nachweis einer kleinen Menge Propionsäure unmöglich machen. Man kann freilich die in der Hitze ausgeschiedenen Salze heiß abfiltrieren und in anderer Weise analysieren, es zeigt sich aber dann, wenn nicht gerade verhältnismäßig

1) Zeitschrift für analytische Chemie. Bd. X. p. 184.

2) Liebigs Annalen. Bd. CLX. p. 217.

viel Propionsäure vorliegt, daß die Ausscheidungen entweder nur eine Spur flüchtiger Fettsäuren oder auch sämtliche Homologen enthalten.

Wertvoller sind die quantitativen Reaktionen, wie die Bestimmung des Gehaltes der Salze an Basen. So läßt sich aus dem Gewicht des durch Abrauchen der Barytsalze mit Schwefelsäure gebildeten Baryumsulfats auf die vorherrschende Säure schließen. Da das vorausgehende Trocknen der Barytsalze indessen nicht ohne eine schwache Dissoziation verläuft, habe ich diese Methode nur für die allererste Orientierung gebraucht. Die beste Methode zur Identifizierung der flüchtigen Fettsäuren ist unbedingt die Bestimmung des Silbergehaltes ihrer Silbersalze. Diese Salze lassen sich nämlich leicht aus der Lösung der freien Säuren mit Silberkarbonat oder aus der Lösung der Alkalisalze mit Silbernitrat ausfällen, sie enthalten kein Kristallwasser, lassen sich leicht im Vakuum unter Schwefelsäure trocknen und hinterlassen beim vorsichtigen Glühen nach kurzer Zeit ihr Silber in reinem Zustand. In der folgenden Tabelle ist die Löslichkeit und der Silbergehalt dieser Salze zusammengestellt.

Tabelle III.

	100 Teile Wasser lösen bei 20° C	% Silber
Essigsaures Silber	1,037 Teile	64,67
Propionsaures Silber	0,836 "	59,67
Buttersaures Silber	0,485 "	55,38
Valeriansaures Silber	0,185 "	51,67
Capronsaures Silber	0,078 "	48,43
Caprylsaures Silber	Unlöslich	43,03

Wie man sieht, nimmt die Löslichkeit der Silbersalze mit steigendem Molekulargewicht stark ab, weshalb eine fraktionierte Fällung dieser Salze ein vorzügliches Mittel zur Trennung der flüchtigen Fettsäuren ist. Ich bediene mich auch im folgenden dieser Methode, indem ich einfach die eingeengte, filtrierte und mit Salpetersäure genau neutralisierte Barytsalzlösung wiederholt mit einigen Kubikcentimetern normaler Silbernitratlösung behandle. Da bei 20° C nur 9,2 g $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ in 100 Teilen Wasser löslich sind, darf man, um das Auskristallisieren dieses Salzes zu verhindern, die Barytsalzlösung nur bis auf 15 ccm per 100 ccm verwendeter $\frac{n}{10}$ $\text{Ba}(\text{OH})_2$ einengen.

Mikroskopisch sind die Silbersalze der flüchtigen Fettsäuren, wenn sie aus konzentrierten Lösungen ausgefällt werden, wenig charakteristisch. Nur beim Abkühlen von heißen Lösungen kristallisiert das essigsaure Silber in größeren, leicht zu erkennenden Nadeln aus. Erwärmung der Silbersalze (wie Eindunsten der Lösungen nach Zusatz von Silbernitrat) ist jedoch zu vermeiden, denn sämtliche fettsauren Silbersalze, mit Ausnahme vom essigsauren Silber, schwärzen sich beim Kochen mit Wasser deutlich;

nach Strecker¹⁾ soll diese Schwärzung besonders für propionsaures Silber charakteristisch sein. Aus diesem Grund kann eine Schwärzung der wässerigen Lösung der Silbersalze, wenn sie nicht sehr stark ist, nur dann als eine Reaktion für Ameisensäure aufgefaßt werden, wenn sie schon bei Zimmertemperatur eintritt.

Da die Silbersalze der flüchtigen Fettsäuren nicht so schwer löslich sind, daß sie ein auch nur leichtes Auswaschen ertragen können, so sind sie zu quantitativen Bestimmungen dieser Fettsäuren nicht verwendbar; die Filter und die auf denselben befindlichen Salze saugen nämlich so viel von den noch in Lösung vorhandenen Salzen ein (das Eingesaugte wird natürlicherweise nachher möglichst gut zwischen Filtrierpapier ausgepreßt), daß man besonders an den niedrigsten Fettsäuren, die erst mit den letzten Fraktionen ausgefällt werden, beträchtliche Verluste erleidet.

Zur quantitativen Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren ist dagegen die Duclauxsche Methode sehr geeignet. Der Vorteil dieser Methode besteht darin, daß sich nach derselben selbst geringe Mengen flüchtiger Säuren mit großer Genauigkeit bestimmen lassen, und daß man daher nur wenig Rohmaterial braucht. Sie beruht auf der Tatsache, daß die flüchtigen Fettsäuren in verdünnten wässerigen Lösungen um so schneller abdestillieren, je größer ihr Molekulargewicht ist. Füllt man, wie die Methode es vorschreibt, vor der Destillation die Lösung der zu untersuchenden Säuren auf 110 ccm auf, sammelt jede 10 ccm des Destillates für sich und titriert dieselben, so werden die Fraktionen zur Neutralisierung immer mehr Lauge brauchen, wenn man mit einer niedrigeren Fettsäure als Propionsäure zu tun hat, immer weniger dagegen, wenn Propionsäure oder noch höhere Säuren vorliegen. Die Destillation jeder Säure hat ihren ganz bestimmten Verlauf, so daß die Titer der 10 ersten Fraktionen, in Prozenten der Summe der Titer dieser Fraktionen ausgerechnet, für die gleiche Säure immer die gleichen Zahlen, die „Verhältniszahlen“ der betreffenden Säure, liefern werden. Liegt daher nur eine Säure in reinem Zustande vor, so läßt sich dieselbe qualitativ aus den Titern der Fraktionen und quantitativ aus dem Titer des ganzen Destillates bestimmen. Hat man ein Gemisch zweier Säuren, so reicht die Methode nicht länger aus, um mit Sicherheit die Säuren qualitativ zu bestimmen, ist dies dagegen zuerst auf andere Weise geschehen, so läßt sich, von der Tatsache ausgehend, daß jeder flüchtige Bestandteil eines Gemisches so destilliert, wie wenn er allein wäre, aus den Titern der Fraktionen leicht das Verhältnis der zwei Säuren zueinander berechnen. In der Mikrobiologie von Duclaux, Bd. III. Paris 1900. p. 388—394 und Bd. IV. 1901. p. 685, sind nicht nur die Verhältniszahlen der einzelnen Fettsäuren C_1 — C_5 , sondern auch diejenigen für die häufigst vorkommenden Kombinationen zweier dieser Säuren angegeben, was einem die Berechnungen bedeutend erleichtert. Schwieriger stellt sich die Sache, wenn, wie gerade in gereiftem Käse, drei oder mehrere flüchtige Fettsäuren gleichzeitig

1) Ueber eine eigentümliche Bildungsweise der Propionsäure und einige Salze derselben. (Liebig's Annalen. Bd. XCII. 1854. p. 80.)

vorhanden sind. In solchen Fällen muß man, um das Duclauxsche Verfahren zu verwenden, zuerst die Säuren in Fraktionen trennen, die höchstens 2 Säuren enthalten. Diese Trennung führe ich dadurch aus, daß ich die in oben beschriebener Weise aus einem oder mehreren Käsedestillaten gewonnene Lösung der Barytsalze mit einer ungenügenden Menge normaler Schwefelsäure versetze, das gebildete BaSO_4 abfiltriere und auswasche und die freigewordenen flüchtigen Säuren abdestilliere. Der Rückstand wird wieder in der gleichen Weise behandelt und so weiter. Bei dieser Behandlungsweise bekommt man die höheren Fettsäuren in den ersten Fraktionen und die niedrigeren in den letzten, und dieses aus dem doppelten Grund, teils weil die höheren Fettsäuren die schwächsten sind und daher von der Schwefelsäure zuerst frei gemacht werden, teils weil, wie schon erwähnt, aus einer wässerigen Lösung der flüchtigen Fettsäuren diejenigen mit dem höchsten Molekulargewicht zuerst abdestillieren. Die Anzahl der nötigen Fraktionen hängt von der Anzahl und den Eigenschaften der vorliegenden Säuren ab; allgemeine Regeln lassen sich nicht aufstellen, sondern man muß jedesmal sein Verfahren nach der qualitativen Untersuchung richten. Die im folgenden ausführlich beschriebenen Beispiele werden am schärfsten diese Methode beleuchten.

Um festzustellen, wie viel von der gefundenen Buttersäure und Capronsäure aus dem Käsefette entstanden ist, bestimme ich immer die Säurezahl der nicht flüchtigen Säuren im Fette des zu untersuchenden Käses, die sich ja nach dem Salzsäureverfahren in einwandsfreier Weise ermitteln läßt. Von dieser Säurezahl muß man indessen, um die Säurezahl der von der Fettspaltung herrührenden, nicht flüchtigen Säuren zu erhalten, 3 abziehen, denn frisches Butterfett (nach dem Salzsäureverfahren behandelt) hat schon eine Säurezahl der nicht flüchtigen Fettsäuren von ungefähr 3. Aus der so erhaltenen Säurezahl kann man — unter der Voraussetzung, daß sämtliche Glyceride des Käsefettes während der Käsereifung gleich stark gespalten werden, eine Voraussetzung, deren Berechtigung aus der bereits erwähnten Arbeit Kirstens hervorgeht — die Menge der von der Fettspaltung herrührenden Buttersäure und Capronsäure berechnen. Wie in meiner Arbeit über das Ranzigwerden der Butter¹⁾ gezeigt wurde, ist das Verhältnis zwischen der Gesamtsäurezahl und der Säurezahl der flüchtigen Fettsäuren im Butterfette rund 6, das Verhältnis zwischen der Säurezahl der nicht flüchtigen Fettsäuren und derjenigen der flüchtigen daher 5. Nach Spallanzani²⁾ kann man annehmen, daß $\frac{19}{20}$ der flüchtigen Säuren im Butterfette Buttersäure und Capronsäure sind, und nach Duclaux³⁾, daß auf 2 Mol. Buttersäure 1 Mol. Capronsäure kommt. Findet man daher im Fette eines Käses, welcher f Proz. Fett enthält, die Säurezahl der nicht flüch-

1) l. c.

2) Jahresbericht der Tierchemie. 1890. p. 156.

3) Le Lait. p. 325—328.

tigen Säuren a, so müssen die in 100 g dieses Käses von der Fettspaltung herrührende Butter- und Capronsäure annähernd $\frac{a \cdot 19 \cdot f \cdot 10}{5 \cdot 20 \cdot 100} = \frac{19 \cdot a \cdot f}{1000}$ ccm $\frac{1}{10}$ Normallauge zur Neutralisierung brauchen, und von dieser Lauge entfallen $\frac{2}{3}$ auf die Buttersäure und $\frac{1}{3}$ auf die Capronsäure. Diese Berechnung hält jedoch nur für die innere Käsemasse Stich. Für die äußeren Schichten eines Käses ist sie dagegen nicht verwendbar, denn hier verdunstet ein großer Teil der flüchtigen Fettsäuren, oder sie werden gewaschen oder wie bei ranziger Butter von denselben Mikroorganismen, von welchen sie frei gemacht worden sind, verzehrt.

Bei Untersuchungen von Weichkäsen und ganz besonders von deren äußeren Schichten, ist die durchmischte Käsemasse sofort in Arbeit zu nehmen, weil die Zersetzung des Fettes darin mit größter Schnelligkeit weiter geht. Ein Beispiel genügt, um dieses Verhältnis zu veranschaulichen. Unmittelbar nach der Durchmischung der äußeren Schichten des in Tabelle I erwähnten Brieckäses hatte das darin vorhandene, nach dem Salzsäureverfahren gewonnene Fett die Säurezahl 60,7; nachdem die durchmischte Käsemasse 24 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden war, 169,0. Da Mikroorganismen kaum im stande wären, das Fett so rasch zu zersetzen, ist es anzunehmen, daß die Käsemasse große Mengen fettspaltender Enzyme enthielt, die beim Durchmischen mit sämtlichen Fettkügelchen in Berührung gebracht wurden und daher viel schneller wirken konnten als im unberührten Käse, in welchem sie wahrscheinlich hauptsächlich in den alleräußersten Schichten in unmittelbarer Nähe der sie ausscheidenden Mikroorganismen vorhanden waren. Daß fettspaltende Enzyme in der Käserinde vorkommen, habe ich in meiner Arbeit, „Studien über Enzyme im Käse“¹⁾, in anderer Weise wahrscheinlich gemacht.

Als Untersuchungsmaterial habe ich die bereits in Tabelle I näher charakterisierten Käsesorten gewählt, und ich werde sie im folgenden in derselben Reihenfolge, wie sie in dieser Tabelle erwähnt worden sind, behandeln.

Emmentalerkäse.

Da in der Einleitung das Untersuchungsverfahren sowohl als auch die Merkmale der einzelnen Käsesorten genügend besprochen worden sind, werden wir uns gleich an ein konkretes Beispiel, nämlich an die innere Masse eines 12 Monate alten, in allen Beziehungen normalen Emmentalerkäses, wenden. Dieselbe hatte einen Fettgehalt von 33,82 Proz.; das nach dem Salzsäureverfahren gewonnene Fett zeigte die Säurezahl 12, wovon 3 jedoch von flüchtigen Säuren und andere 3, wie erwähnt, von den schon im frischen Butterfett vorhandenen nicht flüchtigen Säuren herrührten; die Säurezahl der durch die Fettspaltung gebildeten nicht flüchtigen Säuren (im folgenden führe ich gleich diese reduzierte Zahl an) war somit nur 6, und die von der Fettspaltung herrührenden in

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1900. p. 772.

100 g Käse vorhandenen Capronsäure und Buttersäure entsprechen daher, nach meiner Formel berechnet, nur 1,28 bzw. 2,57 ccm $\frac{n}{10}$ Lauge, also zusammen 3,85, was nur einen unbedeutenden Teil der Destillationszahl, die bei der vorliegenden Käsemasse 64,2 betrug, ausmacht. Die Barytsalze der abdestillierten Säuren waren in absolutem Alkohol sehr schwer löslich, ein Zeichen, daß sie nur wenig buttersauren Baryt enthielten. Durch Abrauchen mit Schwefelsäure lieferten die getrockneten Barytsalze 86,9 Proz. BaSO_4 , was gleichen Teilen von propionsaurem und essigsäurem Baryt genau entspricht. In der Tat werden die folgenden Analysen der Silbersalze und die fraktionierte Destillation der wässrigen Lösung der Säuren bestätigen, daß die flüchtigen Säuren des vorliegenden Käses in der Hauptsache aus gleichen Teilen Propionsäure und Essigsäure bestehen. Zur fraktionierten Fällung der Silbersalze wurden die Destillate von 300 g Käse, welche also 193 ccm $\frac{n}{10}$ Säure entsprechen, verwendet. Die aus denselben hergestellte eingeeengte und filtrierte Barytsalzlösung wurde auf 30 ccm aufgefüllt (siehe die Beschreibung der Methoden) und darauf wurde in der Weise mit normaler Silbernitratlösung ausgefällt, wie die nachstehende Tabelle es angibt.

(Siehe Tabelle IV p. 301.)

Diese Tabelle zeigt, daß der Silbergehalt sämtlicher Fraktionen, mit Ausnahme der ersten, zwischen demjenigen des propionsauren und des essigsäuren Silbers liegt (vergl. Tabelle III). Gerade so verhält sich ein Gemisch von ungefähr gleichen Teilen propionsaurem und essigsäurem Alkali gegenüber Silbernitrat. Die Löslichkeit des propionsauren und des essigsäuren Silbers ist nämlich so wenig verschieden, daß das anfängliche Verhältnis zwischen Propionsäure und Essigsäure sehr ungleich sein muß, um eine Fraktion zu erhalten, die nur aus propionsaurem bzw. nur aus essigsäurem Silber besteht. Daß die Fraktionen II—VIII nicht als Gemische von wenig buttersaurem, mit viel essigsäurem Silber aufzufassen sind, folgt daraus, daß keine dieser Fraktionen aus reinem essigsäurem Silber besteht. Im Gegensatz zu Propionsäure und Essigsäure lassen sich Buttersäure und Essigsäure sehr gut als Silbersalze trennen; ein Gemisch der Alkalisalze der zwei letzteren Säuren liefern mit Silbernitrat zuerst einige Fraktionen, die aus fast reinem buttersäurem Silber, zuletzt einige, die aus fast reinem essigsäurem Silber und dazwischen nur 1—2 Fraktionen, die aus Gemischen bestehen.

Um den exakten Beweis für die Anwesenheit der Propionsäure zu leisten, wurden 3 kg Käse destilliert, wodurch eine Menge flüchtigen Säuren, die 193 ccm Normallauge entsprach, gewonnen wurde. Die Barytsalzlösung dieser Säuren wurde mit 90 ccm normaler Schwefelsäure ausgefällt, filtriert und destilliert. Das Destillat, welches nur wenig Essigsäure enthalten konnte, wurde mit Natronlauge neutralisiert (85 ccm Normallauge), auf 150 ccm eingeeengt

Tabelle IV.

Nummer der Fraktion	Verwendete Anzahl ccm normal Silbernitratlösung	Milligramm Silbersalz	Die Silbersalze enthalten Milligramm Silber	Proz. Silber in den Silbersalzen	Der Silbergehalt entspricht folgenden Gewichtsverhältnissen	Aus d. Gewichtsverhältnissen lassen sich folgende Anzahl Milligramm der einzelnen Silbersalze berechnen			
						Capron-saures Silber	Butter-saures Silber	Propion-saures Silber	Essig-saures Silber
I	2	106,2	58,7	55,27	Ps Ag : Cs Ag ¹⁾ = 1,55	41,6	—	64,6	—
II	3	401,4	244,6	60,93	Ps Ag : Es Ag = 3,0	—	—	301,0	100,4
III	3	439,2	268,2	61,06	Ps Ag : Es Ag = 2,6	—	—	327,2	112,0
IV	3	339,4	207,5	61,14	Ps Ag : Es Ag = 2,4	—	—	239,6	99,8
V	3	203,0	124,7	61,46	Ps Ag : Es Ag = 1,8	—	—	130,5	72,5
VI	6	190,6	118,0	61,91	Ps Ag : Es Ag = 1,2	—	—	104,0	86,6
VIII	Die Lösung wurde auf die ursprünglichen 30 ccm eingeengt	176,3	110,6	62,73	Ps Ag : Es Ag = 0,63	—	—	68,1	108,2
Die 30 ccm Wasser können bei 20° C in Lösung enthalten :						23,4	145,5	240,8	311,1
Summa						65,0	145,5	1,475,8	890,6
Das Gewicht der einzelnen Silbersalze entspricht									
ccm $\frac{n}{10}$ Säure:						2,9	7,5	81,5	53,3

und mittels 10, 20, 20, 20 und 15 ccm normaler Silbernitratlösung in 5 Fraktionen geteilt. Die erste und die letzte Fraktion, welche voraussichtlich die unreinste Propionsäure liefern mußten, wurden nicht analysiert. Der Silbergehalt der zweiten, dritten und vierten Fraktion war 58,85 bzw. 59,22 und 59,80 Proz., also alle sehr nahe demjenigen des propionsauren Silbers, welcher 59,67 Proz. beträgt. Die zweite und dritte Fraktion enthielten eine geringe Menge höherer Fettsäuren, die vierte Fraktion schien dagegen nur aus propionsaurem Silber zu bestehen, weshalb der ganze nach der Silberbestimmung übrig gebliebene Teil dieser Fraktion mit Schwefelsäure destilliert und das Destillat zu näherer Prüfung auf Propionsäure verwendet wurde. Nach Duclaux in verschiedenen Fraktionen destilliert, lieferte es stets die Verhältniszahlen der reinen Propionsäure, und die daraus dargestellten basischen Bleisalze zeigten das charakteristische Verhalten des basischen propionsauren

1) In den Tabellen werden der Kürze halber die flüchtigen Säuren öfters nur mit ihrem Anfangsbuchstaben und einem s bezeichnet. As, Es, Ps, Bs, Vs und Cs heißt somit Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Valeriansäure und Capronsäure.

Bleis. Das Vorkommen von Propionsäure im Emmentalerkäse ist somit festgestellt.

Die in der Tabelle IV angeführte erste Fraktion hat einen ähnlichen Silbergehalt wie das buttersaure Silber. Sie kann indessen gleichwohl nicht aus diesem Salze bestehen, denn sie muß in erster Linie die von der Fettspaltung herrührende Capronsäure enthalten und müßte somit, wenn sie auch Buttersäure enthielte, einen viel kleineren Silbergehalt als buttersaures Silber aufweisen. Da dieses nicht der Fall ist, so besteht sie aus einem Teil capronsaurem und 1,55 Teilen propionsaurem Silber, welches Gemisch genau 55,27 Proz. Silber enthält. In den vorliegenden Käsedestillaten ist somit so wenig Buttersäure vorhanden, daß ihr Silbersalz in den für das Verhindern des Auskristallisierens des Baryumnitrats nötigen 30 ccm Wasser gelöst bleibt.

Das Filtrat der VI. Fraktion wurde beim Stehen der Zimmertemperatur schwarz, was auf Ameisensäure deutet; es wurde auf dem Wasserbade auf die ursprünglichen 30 ccm eingeengt, wobei sich noch mehr Silber ausschied, und heiß filtriert. Im Filtrate schied sich dann beim Erkalten die VIII. Fraktion aus. Das abfiltrierte Silber (die VII. Fraktion) wurde auf dem aschenfreien Filter ausgewaschen und geglüht. Es wog 82,6 mg, was 8 ccm $\frac{n}{10}$ Ameisensäure entsprechen würde, wenn aus jedem Molekül Ameisensäure ein Atom Silber entstünde. Mehr als eine Spur Ameisensäure kam im Käsedestillate jedoch nicht vor, was das spätere Untersuchungsverfahren beweist.

Aus der Analyse der Silbersalze geht hervor, daß die flüchtigen Säuren im vorliegenden Käse in der Hauptsache aus Propionsäure und Essigsäure bestehen, und jedenfalls nicht mehr Capron- und Buttersäure enthalten, als was von der Fettspaltung herrührt. Summieren wir die in den einzelnen Fraktionen gefundenen Mengen Silbersalze wie auch die Mengen derselben, die sich vermutlich noch in Lösung befinden, so kommen wir zu einer Silbersalzmenge, die 145 ccm $\frac{n}{10}$ Säure entspricht; eine Salzmenge, die 193—145 =

48 ccm $\frac{n}{10}$ Säure entspricht, ist also bei den erwähnten Manipulationen verloren gegangen, obwohl aufs allersorgfältigste gearbeitet wurde. Die Silbersalze können somit, wie es bereits erklärt wurde, nicht zur quantitativen Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren gebraucht werden. Zu dieser Bestimmung ist nur das Duclauxsche Verfahren verwendbar. Zu seiner Ausführung im vorliegenden Falle wurde die von 150 g Käse herrührende Barytsalzlösung mittels Zusatzes von Schwefelsäure und nachfolgender Destillation in 5 fast gleichviel Säure enthaltende Fraktionen geteilt und jede derselben, nach Duclaux fraktioniert, destilliert.

Die Titer jeder 10 ccm Destillat (a), die Summen derselben (b), die daraus berechneten Verhältniszahlen (c) und die entsprechenden Mengen der flüchtigen Säuren sind folgende:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
I. Fraktion											
a.	2,000	1,850	1,750	1,650	1,550	1,450	1,375	1,375	1,375	1,300 *	1,550
b.	2,000	3,850	5,600	7,250	8,800	10,300	11,750	13,125	14,500	15,800	17,750
c.	12,7	24,4	35,4	45,9	55,7	65,2	74,4	83,2	91,8	100,0	
d.	12,1	24,0	35,3	46,2	(56,8	66,7	76,2	85,0	93,0)	=	Propionsäure
e.	12,5	24,4	35,2	46,0	55,7	65,0	(73,7	82,2	90,7)	=	Bs: Es = 1:1 ¹⁾
f.	12,6	24,4	35,6	46,2	55,9	65,3	74,2	83,0	91,5	=	Cs: Bs: Ps: Es = 0,3:0,4:3:1,3
		1,065	Cs + 1,42	Bs + 10,65	Ps + 4,615	Es =					
II. Fraktion											
a.	2,100	1,950	1,875	1,825	1,800	1,775	1,725	1,700 *	1,725	1,750	2,025
b.	2,100	4,050	5,925	7,750	9,550	11,325	13,050	14,750	16,475	18,225	20,250
c.	11,5	22,2	32,5	42,5	52,4	62,1	71,6	80,9	90,4	100,0	
e.	11,3	22,3	32,6	42,8	52,3	61,7	(70,5	79,9	89,2)	=	Bs: Es = 1:1,6
f.	11,1	21,9	32,4	42,5	52,5	62,1	71,6	81,2	90,2	=	Cs: Bs: Ps: Es = 0,5:0,25:2:1,3
		0,28	Cs + 1,41	Bs + 11,25	Ps + 7,31	Es =					
III. Fraktion											
a.	1,900	1,900	1,875	1,875	1,875	1,850	1,825 *	1,850	1,875	1,950	2,500
b.	1,900	3,800	5,675	7,550	9,425	11,275	13,100	14,950	16,825	18,775	21,275
c.	10,1	20,2	30,2	40,2	50,2	60,1	69,8	79,6	89,6	100,0	
e.	10,5	20,9	30,9	40,8	50,1	59,5	(68,7	78,3	88,3)	=	Bs: Es = 1:2,2
f.	10,2	20,4	30,5	40,5	50,4	60,2	69,9	79,4	89,6	=	Ps: Es = 1,5:1
					12,775	Ps + 8,50	Es =				
IV. Fraktion											
a.	1,500	1,500	1,500	1,525	* 1,550	1,575	1,600	1,675	1,750	1,900	2,700
b.	1,500	3,000	4,500	6,025	7,575	9,150	10,750	12,425	14,175	16,075	18,775
c.	9,3	18,7	28,0	37,5	47,1	56,9	66,9	77,3	88,2	100,0	
f.	9,2	18,6	28,0	37,5	47,0	56,7	66,5	77,0	87,7	=	Ps: Es = 1:1,6
					7,22	Ps + 11,555	Es =				
V. Fraktion											
a.	1,150	1,225	1,275	1,325	1,350	1,400	1,500	1,600	1,800	2,200	
b.	1,150	2,375	3,650	4,975	6,325	7,725	9,225	10,825	12,625	14,825	18,260
c.	7,8	16,0	24,6	33,6	42,7	52,1	62,2	73,0	85,2	100,0	
d.	(7,4	15,2	23,4	32,0	40,9	50,5	60,6	71,9	84,4)	=	Essigsäure
f.	7,9	16,1	24,6	33,4	42,5	52,1	62,2	73,2	85,3	=	Ps: Es = 1:9
			(In 100 ccm	1,483	Ps +	13,342	Es =	14,825b)			
			In 110 ccm	1,585	Ps +	16,672	Es =	18,26			
Summa	1,345	Cs + 2,83	Bs + 43,48	Ps + 48,655	Es = 96,31						in 150 g Käse
	2,69	Cs + 5,66	Bs + 86,96	Ps + 97,31	Es = 192,62						in 300 g Käse
	0,9	Cs + 1,9	Bs + 29,0	Ps + 32,4	Es = 64,2	=					D. Z. in 100 g Käse (abgerundet).

1) Ueberall, wo nicht ausdrücklich Gewichtsverhältnis geschrieben ist, ist Aequivalentverhältnis zu verstehen.

Nach den Ergebnissen der Silbersalze muß die erste Fraktion vornehmlich aus Propionsäure und die letzte vornehmlich aus Essigsäure bestehen. Demgemäß nehmen in der ersten Fraktion die Titer jeder 10 ccm Destillat (a) fortwährend ab (bei der allerletzten Unterfraktion findet jedoch eine Steigerung des Titers statt) und in der letzten Hauptfraktion fortwährend zu. In den dazwischen liegenden Fraktionen nehmen die Titer anfänglich ab und später zu, der Wendepunkt ist mit einem * bezeichnet. Vergleicht man die Verhältniszahlen der ersten Fraktion (c) mit denjenigen der reinen Propionsäure (d), so sieht man, daß sie sich nur bei der dritten Unterfraktion decken, vorher sind sie größer und nachher kleiner. Die erste Fraktion enthält daher neben Propionsäure sowohl höhere als niedrigere Säuren und (da der Kreuzungspunkt so weit im Anfange liegt) besonders viel von den letzteren. Die höheren Säuren sind natürlicherweise die Hauptmenge der von der Fettspaltung herrührenden Capron- und Buttersäure, welche vorzugsweise in die erste Fraktion übergehen muß, und die niedrigen Säuren Essigsäure. Es läßt sich leicht berechnen, daß das unter f aufgeführte Verhältnis zwischen Capronsäure, Buttersäure, Propionsäure und Essigsäure Verhältniszahlen liefert, welche die gefundenen (die unter c aufgeführten) am besten decken (eine Abweichung der entsprechenden Verhältniszahlen bis 0,5 liegt innerhalb der Fehlergrenze). Daß die erste Hauptfraktion wirklich Capronsäure enthielt, ging aus dem milchigen Aussehen des ersten 10 ccm Destillats hervor. Die schwere Löslichkeit der Capronsäure ist überhaupt eine feine Reaktion derselben.

Wenn man nicht die Analyse der Silbersalze als Anhaltspunkt gehabt hätte, so würde es nahe liegen, die verschiedenen Fraktionen als Gemische von Buttersäure und Essigsäure zu deuten, und da die von den Verhältniszahlen der Buttersäure gebildete Kurve auf einer großen Strecke mit derjenigen der Verhältniszahlen der Propionsäure fast parallel läuft, so lassen sich Gemische von Buttersäure und Essigsäure berechnen, die ähnliche Verhältniszahlen haben, wie die vorliegenden Gemische von Propionsäure und Essigsäure. Für die drei ersten Hauptfraktionen habe ich diese Gemische berechnet und ihre Verhältniszahlen unter e angeführt. Wie man sieht, stimmen dieselben bis in den letzten 3 (in Parenthese gesetzten) Gliedern mit den gefundenen Verhältniszahlen gut überein; daß indessen letztere in den letzten 3 Gliedern nicht gedeckt werden, sich aber von den Verhältniszahlen der Propionsäuregemische decken lassen, beweist gerade, daß unsere Fraktionen Propionsäure und nicht Buttersäure enthalten.

Ein Vergleich der Verhältniszahlen der letzten Fraktion mit denjenigen der reinen Essigsäure (d) zeigt, daß diese Fraktion noch etwas Propionsäure enthält. Propionsäure und Essigsäure lassen sich somit wegen ihrer nahen Verwandtschaft ebenso schwierig durch fraktionierte Destillation ihrer wässerigen Lösungen wie durch fraktionierte Fällung der Silbersalze trennen. Wenn das vorliegende Käsedestillat Ameisensäure enthalten würde, so wäre diese Säure vorzugsweise in der letzten Fraktion zu suchen. Die Verhältnis-

zahlen dieser Fraktion stimmen indessen mit denjenigen eines Gemisches von 9 Molekülen Essigsäure auf je 1 Molekül Propionsäure so gut überein, daß man nicht bezweifeln kann, daß die letzte Fraktion auch wirklich ein solches Gemisch darstellt; mehr als eine Spur Ameisensäure kann deshalb darin nicht vorhanden sein.

Summiert man die Menge der einzelnen Säuren in den verschiedenen Fraktionen, so bekommt man die Gesamtmenge dieser Säuren. Bei dieser Berechnung ist zu beobachten, daß die letzten 10 ccm der letzten Fraktion, die sich wegen überschüssiger Schwefelsäure nicht direkt titrieren lassen, auch flüchtige Säuren enthalten. Deren Menge läßt sich indessen nach Duclaux dadurch berechnen, daß von 110 ccm Flüssigkeit 100 Proz. Capron- und Valeriansäure, 97,5 Proz. Buttersäure, 95 Proz. Propionsäure, 80 Proz. Essigsäure und 59 Proz. Ameisensäure in 100 ccm Destillat hinübergehen.

Um die nach dem Duclauxschen Verfahren gewonnenen Resultate mit denjenigen, die wir aus den Silbersalzen ermittelt haben, zu vergleichen, habe ich nicht nur die Mengen der einzelnen Säuren auf 100 g Käse umgerechnet, sondern auch auf 300 g. Wie man sieht, stimmt die Menge der Capronsäure am besten, weil das Silbersalz dieser Säure fast unlöslich ist; von der Propionsäure und besonders von der Essigsäure ist nach der Silbersalzmethode vieles verloren gegangen. Was die Buttersäure betrifft, so haben wir ja die kleine Menge derselben nach dieser Methode gar nicht

bestimmen können, die aufgeführten 7,5 ccm $\frac{n}{10}$ ist nur die mögliche Maximalmenge. Nach keiner der zwei Methoden haben wir mehr Capron- und Buttersäure gefunden, als was von der Fettspaltung herrühren kann. Die flüchtigen Säuren bestehen in der Hauptsache aus Propionsäure und Essigsäure, und zwar im Verhältnis 1:1, wie die Analyse der Barytsalze es bereits ergab.

Eine Anzahl anderer, ebenfalls vollreifer Emmentalerkäse verschiedener Herkunft und Beschaffenheit wurden in ähnlicher Weise untersucht. Ich führe hier nur die Endresultate an. Bei den Käsen, bei welchen keine Capron- und Buttersäure aufgeführt sind, war die Fettspaltung so gering, daß man von diesen Säuren völlig abstrahieren konnte. Eine Spur Ameisensäure ließ sich in allen diesen Käsen nachweisen. (Siehe Tabelle V p. 306.)

In den in der Tabelle aufgeführten Analysen schwankt die Destillationszahl von 4—112 und das Verhältnis zwischen Propionsäure und Essigsäure von 0,8—2,5. Interessant ist der Unterschied zwischen den äußeren und inneren Schichten desselben Käses. Da die Fettspaltung in den äußeren Schichten am stärksten ist, so findet man auch hier am meisten Capron- und Buttersäure, aus den in der Einleitung erwähnten Gründen, jedoch nie die berechnete Menge. Aus denselben Gründen ist die Rinde auch immer ärmer an Propion- und besonders an Essigsäure als die innere Masse. Diese Tatsache dürfte vielleicht auch daher rühren, daß die Reifungsvorgänge in den äußeren Schichten eines Emmentalerkäses weniger lebhaft als in der inneren Masse verlaufen. Bei einigen Emmentalerkäsen nimmt die Menge der flüchtigen Säuren

Tabelle V.

		Von der Fettspaltung kann herrühren		Gefunden				D. Z.	Ps : Es
		Capron-säure	Butter-säure	Capron-säure	Butter-säure	Propion-säure	Essig-säure		
Normaler Emmentaler-käse	Inneres	1	2	1	2	57	28	88	2 : 1
Derselbe Käse	Aeußeres	17	34	8	14	38	15	75	2,5 : 1
Normal. Emmentalerkäse	Inneres	1,8	3,6	2	4	53	42	101	1,3 : 1
Normal. Emmentalerkäse	Inneres	—	—	—	—	51	61	112	1 : 1,2
Geblähter Emmentaler-käse	Inneres	—	—	—	—	37	46	83	1 : 1,3
Geblähter Emmentaler-käse, der noch eine Nachgärung erlitten hat	Inneres	1	2	0,8	1,6	40	52	94,4	1 : 1,3
Derselbe Käse	Aeußeres	8,6	16,2	1,5	3	25	17	46,5	1,5 : 1
Blinder Emmentalerkäse	Inneres	—	—	—	—	20	20	40	1 : 1

allmählich von innen nach außen ab, so hatte in einem solchen Käse die innerste Masse die Destillationszahl 87, die unter der Rinde liegende 10 mm dicke Schicht 75 und die äußerste 2 mm dicke Rindenschicht nur 64; bei anderen Emmentalerkäsen dagegen enthält die Schicht unter der Rinde ebensowenig flüchtige Säuren als die Rinde selber (s. Tabelle II, Emmentalerkäse 3). Wegen der starken Fettspaltung in den äußeren Schichten eines Käses enthält das saure Destillat dieser Schichten auch immer eine reichliche Menge Caprin- und Caprylsäure, welche Säuren ohne Zweifel zu dem unangenehmen Geruche der Käserinde beitragen.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Wasserröste des Flachses.

[Arbeit aus der Kgl. Bayer. Agrikultur-botanischen Anstalt.]

Von Dr. K. Störmer, München.

(Schluß.)

Sehr eingehend wurde noch die Frage geprüft, ob nicht der Rösterreger niederere N-Verbindungen (Amide oder anorganische N-Salze) verwerten kann, wenn ihm die ihm entsprechendste Nahrung, Pektinstoffe, geboten werden. Das Resultat war stets das nämliche. In keinem Falle war Wachstum oder Gärung zu bemerken, wenn die echte Reinkultur geprüft wurde. Bezüglich des hierdurch auch aus meinen Versuchen sich ergebenden Widerspruchs

zu den Befunden von Friebes muß ich mich der Kritik von Prof. Behrens¹⁾ anschließen, der mit Recht auf den Widerspruch hinweist, welcher darin liegt, daß Friebes' Bacillus ausschließlich bei Gegenwart von Pepton die einfachen Kohlenhydrate wie Glukose etc., die komplizierteren Pektinkörper dagegen schon bei Ernährung mit mineralischem Stickstoff zu vergären vermochte. Die Widersprüche wird voraussichtlich die immer noch fehlende ausführlichere Veröffentlichung von seiten Friebes' aufklären.

Daß das Stickstoffbedürfnis von *Pl. pectinovorum* ziemlich groß ist, ergibt sich schon aus dem angeführten Versuch; im allgemeinen läßt sich sagen, daß die Vergärung von Kohlehydraten und Pektinen proportional der vorhandenen Peptonmenge verläuft, mit der Beschränkung, daß bereits 2 Proz. Pepton das Wachstum der Reinkultur unterdrücken. Nebenorganismen vermögen auch hier noch helfend einzuwirken.

Ebenso interessant wie die Stickstofffrage ist die Kohlenstofffrage. Nach mehrfachen Prüfungen wurden von der Reinkultur bei Gegenwart von Pepton unter Sauerstoffabschluß vergoren: Sämtliche Pektine und Pektinsäuren aus Möhren, Seradella, Lein und Hanf, ferner Reisstärke, lösliche Stärke, Dextrin, Raffinose, Rohrzucker, Maltose, Glukose, Galaktose, Arabinose und einmal selbst Xylose, dagegen bleiben unvergoren: Cellulose, Glycerin und arab. Gummi.

In erster Linie interessiert die Feststellung, daß auch der von mir isolierte Rösteerreger durchaus nicht im stande ist Cellulose zu verwerten. Auf diese Prüfung wurde natürlich besonderer Wert gelegt, indessen war das Resultat stets dasselbe: ein rein negatives, wie übrigens nach allem Vorhergehenden zu erwarten war.

Fragen wir uns ferner, wie sich der Organismus zu den Kohlehydraten stellt, die höchstwahrscheinlich den Molekularkomplex der Pektine ausmachen, also im wesentlichen Glukose, Galaktose und Arabinose, so ergibt sich das erfreuliche Resultat, daß *Pl. pectinovorum* diese Körper außerordentlich gut verwerten kann, entschieden besser als die Pektinkörper selbst, was ja auch in Anbetracht der geringeren Energie, die die Zersetzung dieser niedereren Körper erfordert, selbstverständlich ist.

Von besonderer Bedeutung ist die prompte Vergärung der Arabinose. Wie es nach dem Ergebnis der Isolierungsarbeiten nicht anders zu erwarten war, vermag auch die Reinkultur diesen wichtigen Bestandteil der Pektine zu vergären. Daß wirklich Arabinose den Pentosankomplex der Pektine einnimmt und nicht Xylose, scheint, abgesehen von den chemischen Untersuchungen Scheiblers und anderer, indirekt wohl auch aus meinen Vergärungsversuchen, die mit beiden Körpern angestellt wurden, hervorzugehen; denn der Rösteerreger erwies sich, verglichen mit der Arabinose, der Xylose gegenüber sehr viel träger. Bei vielen Versuchen gelang es mir nur einmal, eine glatte Vergärung zu er-

1) A. a. O.

reichen. Uebrigens dürfte damit meines Wissens zum ersten Male die Xylose wirklich vergoren worden sein; sie ist auch sonst für die meisten Bakterien ein schlechter Nährstoff und ihre Zersetzer verdienen deshalb, und mehr noch aus anderen biologischen Gründen, ein hohes Interesse. Schon seit längerer Zeit bin ich im Besitz einer anderen Bakterienart, die die Xylose sehr energisch zu vergären vermag. Ueber diesen Organismus und andere Plektridienarten, die die Fähigkeit besitzen, den Humus zu zersetzen, für den bisher trotz zahlreicher Versuche die ihn verwertenden Organismen völlig unbekannt blieben, obgleich die Humuszersetzung in der Natur eine enorm große Rolle spielt, wird an anderer Stelle demnächst berichtet werden.

Schon hier kann betont werden, daß die Gärprodukte, die der Rösteregger hervorbringt, für den Verlauf des technischen Prozesses von größter Wichtigkeit sind. Deshalb war deren genauere Untersuchung eine Hauptaufgabe, umsomehr, als die Angaben hierüber bisher sehr unbestimmte sind.

Zunächst mußte mir daran liegen, die Produkte der Grundsubstanzen der Pektinkörper, der Glukose, Galaktose und Arabinose möglichst genau zu bestimmen.

Das hierzu angewandte Verfahren ist bei allen nachfolgenden Untersuchungen das gleiche im nachstehenden angegebene:

Die Nährlösungen, in welche die Menge des zu untersuchenden Kohlehydrates genau eingewogen wurde, befanden sich bei diesen Versuchen, wo auch die entstehenden Gase quantitativ aufgefangen werden sollten, in den bekannten pasteurisierungsfähigen Milchflaschen und wurden mit aufgesetztem Wattestopfen in gewöhnlicher Weise sterilisiert und dann beimpft. Darnach wurde ein einfach durchbohrter, sterilisierter Gummistopfen, der eine dünne Glasröhre mit Hahn trug, steril aufgesetzt und soweit in die Flasche getrieben, daß der Bügelverschluß derselben, von welchem der Porzellanknopf entfernt worden war, den Gummistopfen faßte und beim Niederdrücken denselben noch tiefer in die Flasche trieb. Durch eine Wachs-Kolophoniummischung wurde dann noch alles gedichtet, der Glashahn mit dünnem Draht am Bügel befestigt, ein kurzer, dickwandiger Gummischlauch an die Glasröhre, die den Hahn trägt, angesetzt und dann der kleine Raum (einige Kubikcentimeter), den die Nährflüssigkeit in der Flasche noch frei ließ, möglichst evakuiert. Darnach kam die so behandelte Flasche, sorgfältig mit Glashahn und Klemme (am Gummischlauch) verschlossen, in den Brutschrank (30°). Ich sagte bereits, daß die in der Flasche zurückbleibende sehr geringe Sauerstoffmenge den Eintritt der Gärung nicht verhinderte, obwohl sie ihn etwas verzögerte, wenn man nur dafür sorgte, daß die Nährflüssigkeit in hoher Schicht angewandt wurde und kurz vorher sterilisiert war. Man muß annehmen, daß alsdann die Flüssigkeit in der Tiefe völlig frei von Sauerstoff ist und damit die Bedingungen für Eintritt der Gärung dort vorhanden sind. Beginnt aber an einer andern Stelle das Wachstum und damit die Gärung, so werden durch die sich entwickelnden Gase die Spuren Sauerstoff in der übrigen Flüssigkeit schnell verdrängt, und der Prozeß kann nunmehr in allen Teilen vor sich gehen.

Die besprochene Anordnung des Versuchs gestattet quantitativen Arbeiten und hat den Vorzug, daß man beliebig viele Versuche nebeneinander vornehmen kann, da der Raum des Thermostaten nicht mehr als durch andere Kulturflaschen in Anspruch genommen wird und die Recipienten mit dem teuren Quecksilber zum Auffangen der Gase vollständig wegfallen.

Von Zeit zu Zeit wurde das sich ansammelnde und unter Druck stehende Gas entnommen, gemessen und in der bekannten Weise analysiert. Gegen Ende der Gärung wurden die Proben mit Hülfe des Vakuums des Meßapparates entnommen und durch Erwärmen der Flüssigkeit auf 60—80° das Heraustreiben des dann fast nur noch aus CO₂ bestehenden Gases unterstützt. Bei ganz quantitativen Versuchen hätte dieses Erwärmen bis zum 20 Minuten langen Kochen gesteigert werden müssen. Darauf glaubte ich indessen verzichten zu können, da es mir nur auf ungefähre quantitative Bestimmung der Gase ankommen konnte und das Schergewicht der Natur der Sache entsprechend auf die qualitative Analyse gelegt werden mußte. Deshalb wurde die Flasche, wenn die Gasanalyse vorwiegend Kohlensäure anzeigte, geöffnet, der Inhalt quantitativ in einen Kolben übergespült und nunmehr bis zur Hälfte abdestilliert. Die Flüssigkeit wurde dadurch ganz neutral, da die gelöste Kohlensäure entwich und der stets im Ueberfluß vorhandene kohlensaure Kalk alle anderen Säuren gebunden hatte.

Das Destillat wurde in der bekannten Weise durch öfteres Abdestillieren zur Hälfte, zuletzt unter Sättigung mit Kochsalz konzentriert und durch Aussalzen mit Kaliumkarbonat auf Alkohole geprüft.

Der Kochrückstand dagegen wurde mit genau soviel ausgekochtem destillierten Wasser versetzt, als wegdestilliert war und von der ungelösten Kreide klar abfiltriert, bezw. bei Bilanzversuchen mit dem Waschwasser vereinigt auf ein bestimmtes Maß gebracht.

Zur Bestimmung der flüchtigen Säuren diente die auch bereits von Omelianski¹⁾ und Winogradsky²⁾ benützte, für die Analyse von Gärflüssigkeiten besonders geeignete Methode von Duclaux³⁾, mit welcher selbst kleine Säuremengen hinreichend genau qualitativ und quantitativ bestimmt werden können. Sie beruht auf dem Prinzip der fraktionierten Destillation einer bestimmten Menge Flüssigkeit und getrennten Titration der einzelnen Fraktionen mit Kalkwasser von bestimmtem Gehalte. Indem man die erhaltenen Werte auf 100 umrechnet, ergibt sich eine Reihe, die für jede der in Betracht kommenden flüchtigen Säuren (Ameisensäure bis Kapronsäure) charakteristisch verläuft. Selbst wenn mehrere dieser Säuren vorhanden sind, können die einzelnen Kom-

1) Omelianski, W., Ueber die Gärung der Cellulose. (Centralblatt f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 193.)

2) Winogradsky, S., Clostridium Pastorianum, seine Morphologie etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. IX. p. 43.)

3) Duclaux, M., Sur le dosage des alcools et des acides volatils. (Annales de l'Institut Pasteur. T. IX. 1895. p. 265.)

ponenten genau bestimmt werden, da auch im Gemenge mit anderen jede Säure sich so verhält, als wenn sie allein destilliert würde.

Jede Destillation wurde mehrfach ausgeführt, da aber dieselben meist völlig übereinstimmten, enthalten die später folgenden diesbezüglichen Angaben immer nur den sich ergebenden Wert dieser Bestimmungen.

Von nicht flüchtigen Säuren konnten nur Milchsäure und Bernsteinsäure in Betracht kommen. Zur Prüfung hierfür wurden die Destillationsrückstände mit der übrigen Flüssigkeit und der abfiltrierten Kreide vereinigt, mit Schwefelsäure angesäuert und mittelst Wasserdampf die flüchtigen Säuren entfernt. Der möglichst konzentrierte Rückstand wurde mehrfach mit Aether ausgeschüttelt, der Aether verdunstet und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Diese saure Lösung neutralisierte man mit schwacher Kalilauge und fällte kochend mit Bariumacetat. Nach Beilstein¹⁾ wird hierdurch die Bernsteinsäure quantitativ als Barumsalz gefällt. Einen eventuell erhaltenen Niederschlag filtrierte man ab und stellte darin die Säure fest, indem man ihn mit Salzsäure behandelte und den gelösten Baryt bestimmte.

In dem Filtrat wurde nach Palm²⁾ mit Bleiessig und alkoholischem Ammon die Milchsäure als basisches Bleisalz gefällt und in bekannter Weise durch das Zinksalz charakterisiert.

1. Vergärung von 4,922 g Traubenzucker.

Nach 5 Tagen vollständig vergoren, da die Fehlingsche Lösung nicht mehr reduziert wird.

Die sich reichlich entwickelnden Gase bestehen hier wie in allen Fällen lediglich aus Kohlensäure und Wasserstoff. Aus leicht verständlichen Gründen sind die zuerst austretenden Gasmengen sehr wasserstoffreich, die gegen das Ende des Gärprozesses sich bildenden umgekehrt stark kohlensäurehaltig.

	H ₂	CO ₂
Am Anfang der Gärung	69,2 Proz.	30,8 Proz.
In der Mitte der Gärung	48,05 "	51,95 "
Gegen Ende der Gärung	12,5 "	87,5 "

Alkohole nur spurenweise vorhanden, die Abscheidung ergab einige sehr kleine Tröpfchen eines aromatisch riechenden Oeles.

Flüchtige Säuren.

No. der Fraktion	Menge des jede Fraktion neutralisierenden Kalkwassers in ccm	Summen der aufeinander folgenden Werte	In Prozenten	Theoretische Werte für 10,0 Mol. Essigsäure und 14,7 Mol. Buttersäure
1	11,0	11,0	13,8	13,5
2	10,0	21,0	26,3	26,2
3	9,5	30,5	38,1	37,8
4	8,55	38,55	48,2	48,4
5	7,80	46,35	57,9	58,5
6	7,30	53,85	67,3	67,8
7	6,95	60,80	76,0	76,1
8	6,45	67,52	84,1	84,1
9	6,40	73,65	92,1	91,9
10	7,35	80,00	100,0	—

1) Zeitschrift für analyt. Chemie (Fresenius). Bd. XXI. p. 536.

2) Palm, Zeitschrift f. analyt. Chemie (Fresenius). Bd. XXII. p. 223; Bd. XXVI. p. 34.

Nur bei Annahme des Vorhandenseins von 10 Mol. Essigsäure und 14,7 Mol. Buttersäure ist der Verhältnissfaktor zwischen beiden Säuren (1,47) konstant, womit bewiesen ist, daß wirklich nur diese Säuren in Betracht kommen.

1 ccm Kalkwasser entspricht bei diesem Versuch

0,002192 g Essigsäure
und 0,003214 „ Buttersäure.

Darnach berechnen sich für 1000 ccm Röstflüssigkeit 0,7149 g Essigsäure und 1,5374 g Buttersäure, zusammen 2,2523 g = 45,76 Proz. von 4,922 g Traubenzucker, d. h. rund 45 Proz. des Zuckers sind in flüchtige Säuren verwandelt worden.

Die Prüfung auf Bernsteinsäure fiel negativ aus; Milchsäure dagegen war in sehr geringer Menge vorhanden.

Bei einem anderen Versuch waren als flüchtige Säuren auch nur Essigsäure und Buttersäure im Verhältnis von 10 : 15,5 gebildet worden.

2. Vergärung von 2,4 g Galaktose.

Nach 3 Tagen vollkommen vergoren, Reduktion mit Fehling'scher Lösung trat nicht mehr ein.

Stürmische Entwicklung von Wasserstoff und Kohlensäure, Alkohole: Spuren eines aromatisch riechenden Oeles.

Flüchtige Säuren.

No. der Fraktion	Menge des jede Fraktion neutralisierenden Kalkwassers in ccm	Summen	In Prozenten	Berechnet für 10 Mol. Essigsäure und 11,1 Mol. Buttersäure
1	4,90	4,90	12,9	12,8
2	4,55	9,45	24,9	24,9
3	4,20	13,65	36,0	36,1
4	4,05	17,70	46,7	46,7
5	3,75	21,45	56,6	56,5
6	3,50	24,95	65,8	65,8
7	3,25	28,20	74,4	74,4
8	3,15	31,35	82,7	82,7
9	3,05	34,40	90,8	91,0
10	3,50	37,90	100,0	100,0

Das Verhältnis zwischen Buttersäure und Essigsäure ist mit 1,11 in allen Fraktionen ein konstantes und daher nur die genannten Säuren vorhanden. Die Uebereinstimmung zwischen den gefundenen und berechneten Werten ist eine vollkommene.

1 ccm Ca(OH)_2 = 0,001973 g Essigsäure
0,002893 „ Buttersäure.

In 1045 ccm Röstflüssigkeit sind darnach enthalten

0,3775 g Essigsäure
0,6143 „ Buttersäure

Sa. 0,9918 flüchtige Säuren = 41,25 Proz.

der angewandten Menge.

Bernsteinsäure nicht, Milchsäure in sehr geringen Mengen vorhanden.

3. Vergärung von 2,5 g Arabinose.

Nach 5 Tagen quantitativ vergoren, da Fehling'sche Lösung nicht mehr beeinflusst wurde.

Auch hier bestanden die entwickelten Gase nur aus Kohlensäure und Wasserstoff.

	H ₂ Proz.	CO ₂ Proz.
Am Anfang der Gärung	69,0	31,0
In der Mitte der Gärung	51,75	48,25
Gegen Ende der Gärung	15,0	85,0

Alkohole nur spurenweise vorhanden, die Aussalzung des auf 10 ccm sukzessive eingeeengten Destillates ergab winzige Mengen eines aromatisch riechenden Oeles.

Flüchtige Säuren. 500 ccm Röstflüssigkeit.

No. der Fraktion	Menge des für jede Fraktion verbrauchten Kalkwassers in ccm	Summen	In Proz.	Theoretische Werte für 11,3 Mol. Essigsäure und 10 Mol. Buttersäure
1	12,8	12,8	12,4	12,2
2	12,05	24,85	24,0	23,8
3	11,30	36,15	34,9	34,7
4	10,70	46,85	45,3	45,2
5	10,0	56,85	54,9	54,9
6	9,5	66,35	64,1	64,1
7	9,0	75,35	72,8	72,9
8	8,85	84,20	81,4	81,6
9	8,95	93,15	90,0	90,3
10	10,35	103,50	100,0	—

Nur für das Verhältnis von 11,3 Mol. Essigsäure (a) und 10 Mol. Buttersäure (b) ist der Faktor $\frac{b}{a}$ konstant, somit nur diese Säuren vorhanden. Säurewert des Kalkwassers wie bei Traubenzucker.

Menge der Essigsäure	0,6202 g
Menge der Buttersäure	0,8046 „
Gesamtmenge der flüchtigen Säuren	1,4248 g = 57,0 Proz.

der angewendeten Pentose.

Bernsteinsäure fehlt, Milchsäure spurenweise gebildet.

Dieselben Zersetzungsprodukte wie die reinen Kohlehydrate lieferten auch die Pektine. Es ist mir leider nicht gelungen, mit den dargestellten Pektinstoffen quantitative Vergärungen durchzuführen; obgleich sie stets sehr schnell in Gärung gerieten, blieb doch stets ein Teil unzersetzt. Die Gründe hierfür sind mir nicht ganz klar geworden. Es ist möglich, daß allein die Veränderungen während der Darstellung und der Sterilisation, die wohl unvermeidbar sind, daran Schuld tragen, indessen können auch noch andere Momente in Betracht gezogen werden, wie beispielsweise die weniger feine Verteilung der Pektinstoffe, als in dem zarten Membrannetz des Pflanzeninnern oder das Fehlen gewisser Stoffe, die die Pflanze liefert.

Jedenfalls entstanden auch bei der teilweisen Vergärung der Pektinstoffe Kohlensäure, Wasserstoff, Essigsäure und Buttersäure, und der zurückbleibende Rest war nicht etwa veränderte Pektin-substanz oder Metapektinsäure, sondern der angewandte unveränderte Pektinstoff. In dieser Beziehung konnten meine Studien aus Zeitmangel nicht vollständig zum Abschluß gebracht werden, und ich behalte mir daher vor, später darauf zurückzukommen.

Besser gestalten sich die Verhältnisse, wenn man an Stelle der künstlichen Pektinstoffe die ausgelaugten Faserpflanzen, in finger-

lange Stücke zerschnitten, verwendet. Da die Sterilisation den zarten Flachs zu leicht verändert, und es darauf ankam die Zersetzungsprodukte einer möglichst unveränderten Pektinsäure zu erhalten, wurde Hanf verwendet, der in gleichen Apparaten wie die Kohlehydrate vergoren wurde.

Versuch mit 10 g Hanf, mit 10 g Kreide und Leitungswasser sterilisiert und mit *Pl. pectinovorum* in Reinkultur vergoren.

Die Entwicklung von Wasserstoff und Kohlensäure nach in dem bekannten Sinne wechselnden Verhältniszahlen war eine ganz enorme. Nach 3 Tagen war der Prozeß beendet. Die mikroskopische wie bakteriologische Kontrolle erwies das ausschließliche Vorhandensein des Rösterregers.

Alkohole: nur Spuren eines stark narkotisch riechenden Oeles.

Flüchtige Säuren: in 450 ccm Röstflüssigkeit; Säurewert für 1 ccm Kalkwasser wie bei Traubenzucker; außerdem 1 ccm = 0,003725 g Valeriansäure.

No. der Fraktion	Menge des für jede Fraktion verbrauchten Kalkwassers in ccm	Summen	In Proz.	Theoretische Werte für 5 Mol. Essigsäure, 1 Mol. Buttersäure und 1 Mol. Valeriansäure
1	3,85	3,85	12,1	12,2
2	3,55	7,40	23,2	23,2
3	3,20	10,60	33,2	33,4
4	3,15	13,75	43,1	43,3
5	2,90	16,65	52,2	51,9
6	2,85	19,50	61,1	60,8
7	2,75	22,25	69,8	69,7
8	2,85	25,10	78,7	78,6
9	2,95	28,05	87,9	88,4
10	3,85	31,90	100,0	—

Die Verhältniszahlen für nur 2 Säuren ergeben keine konstanten Werte; beispielsweise schwankte der Wert für das Verhältnis Essigsäure zu Buttersäure von 1,17 bis 2,7; für das Verhältnis Essigsäure zu Valeriansäure von 3,9 bis 3,0. Die für 5 Mol. Essigsäure, 1 Mol. Buttersäure und 1 Mol. Valeriansäure berechneten Werte stimmen sehr gut mit den gefundenen überein.

Darnach sind aus 10,0 g Hanf gebildet worden

Essigsäure	0,2394 g
Buttersäure	0,0702 "
Valeriansäure	0,0770 "

0,3866 g flüchtige Säuren,

jedenfalls also recht beträchtliche Mengen.

Von nichtflüchtigen Säuren konnten sowohl Spuren von Bernsteinsäure als auch von Milchsäure festgestellt werden.

Nach allem Vorhergehenden ist also *Plectridium pectinovorum* als ein fakultativ anaerobes großes Stäbchen zu charakterisieren, das bei der Sporenbildung Trommelschlägelform annimmt und die spezifische Fähigkeit besitzt, Pektinstoffe bei reichlicher Ernährung mit Eiweiß oder Albumosen zu vergären. Als eine Folge dieser spezifischen Anpassung muß seine Fähigkeit, sowohl die Hexosen als auch die Pentosen vergären zu können, aufgefaßt werden. Aus allen diesen Körpern werden einerseits als gasförmige Produkte Kohlensäure und Wasserstoff zu etwa 50 Proz., andererseits Säuren, im wesentlichen flüchtige Fettsäuren, regelmäßig, wenn auch nur spurenweise, auch Milchsäure gebildet.

d) Die bei der Wasserröste auftretenden Nebenorganismen.

Da die Vergärung der Pektinstoffe, auf welcher die Röste beruht, nur bei Sauerstoffabschluß eintreten kann, so entsteht die Frage, ob und wodurch dieser Abschluß bei der natürlichen Rotte erreicht wird, bei welcher man bekanntlich den Flachs einfach in offenen Behältern unter Wasser setzt. Zur Beantwortung dieser Frage ist nunmehr die äußerst wichtige Mitwirkung der nach p. 175 in kolossaler Menge vorhandenen Nebenorganismen bei der Röste näher zu erörtern. Die aus dem Flachs in das Röstwasser diffundierenden Stoffe, die es tiefgelb färben, bieten einer Legion von Organismen genügend Nährstoffe dar. In dieser Flüssigkeit entwickeln sich daher im Laufe der ersten Stunden jene Bakterien und Pilze, auf die auf p. 175 näher eingegangen wurde, also vor allem Coli-ähnliche und andere asporogene Bakterien und ferner Pilzformen, die den bekannten *Oidium lactis* gleichen. Diese Organismen, und ferner die gleichfalls vorhandenen Fluorescenten und Hefen, sind sehr sauerstoffbedürftig und absorbieren dieses Gas an der Oberfläche der Flüssigkeit derartig begierig, daß keine Spur davon in die Tiefe gelangt. Dort sind demzufolge die Bedingungen für anaërobes Wachstum gegeben, und jetzt erst können die eigentlichen Rösteerreger zur Entwicklung gelangen und ihre röstende Tätigkeit ausüben. Demnach wird die Röste bewirkt durch das Zusammenarbeiten sauerstoffbedürftiger Organismen mit den Rösteerregern; denn die ersteren schaffen den letzteren erst die Bedingungen für ihr Gedeihen. Wenn dies richtig ist, mußte es mir gelingen, die Röste selbst, sowie die Vergärung von Pektinen und Kohlehydraten auch bei Sauerstoffzutritt zu erreichen, wenn nur neben dem *Plectridium* ein oder mehrere der isolierten Nebenorganismen eingepflanzt wurden. Zahlreiche Versuche bestätigten in jeder Richtung diese Voraussetzung. Das Ergebnis vieler Versuche kurz zusammenfassend, konnte diesbezüglich festgestellt werden:

1) Gleichgültig ob man die sterilisierten Faserpflanzen (Flachs oder Hanf) oder Nährlösungen mit Pektinen oder Kohlehydraten verwandte, stets bleiben diese Lösungen unvergoren, wenn man sie nur mit *Plectridium pectinovorum* oder mit einem oder mehreren der Nebenorganismen für sich allein beimpfte und bei Sauerstoffzutritt kultivierte. Nur die Hefen bzw. die Coli-ähnliche Bakterienart vermochten Traubenzucker in bekannter Weise zu vergären.

2) Beimpfte man die gleichen Lösungen dagegen gleichzeitig mit *Pl. pectinovorum* und einem oder mehreren der Nebenorganismen, so trat, wenn die Nebenorganismen geeignet waren, ausgezeichnete Röste bzw. Vergärung ein und zwar schneller und energischer, als wenn man *Pl. pectinovorum* bei künstlichem Sauerstoffabschluß allein arbeiten ließ.

3) Die verschiedenen Arten der Nebenorganismen verhielten sich bezüglich ihrer Fähigkeit, mit *Pl. pectinovorum* zusammen zu wirken, sehr verschieden, manche waren dafür geeigneter als andere.

Am besten bewährte sich die gleichzeitige Einimpfung von Bakterien und Pilzen (*Oidium*). Auch das *Oidium* für sich allein war sehr geeignet, da es wie bei der natürlichen Röste eine dichte Kahlhaut auf den Nährlösungen bildete und dadurch den Sauerstoffzutritt abschloß.

Um nur einen dieser Versuche anzuführen, sei der folgende mit einer 0,4-proz. *Serradella*pektinnährlösung ausgeführte wiedergegeben. Auch hier sollen die Zeichen: —, +, ++, +++ und 0 in gleicher Bedeutung wie auf p. 185 gebraucht werden. Die Beimpfung erfolgte am 20. Februar 1904 mit *Pl. pectinovorum* und den verschiedenen Organismen; einmal jeder Organismus für sich allein, das andere Mal mit *Pl. pectinovorum* kombiniert. Die Röhren wurden unter Sauerstoffzutritt bei 30° kultiviert.

Die Reihe, in welche die verschiedensten Organismen allein eingepft wurden, braucht nicht weiter angeführt zu werden, weil nirgends auch nur die geringste Gärung des Pektins eintrat. Die Organismen entwickelten sich nicht weiter, als es der Peptongehalt (1/10 Proz.) der Lösung gestattete.

Interessanter sind die folgenden in der kombinierten Reihe enthaltenen Resultate.

		Nach 15 ^h	Nach 22 ^h	Nach 24 ^h	Nach 36 ^h
1)	<i>Pl. pectinovorum</i> allein	—	—	—	—
2)	<i>Pl. pect.</i> mit Bacterium	1	—	+	0 Gärung beendet
3)	" " " "	2	+++	+++	0 " "
4)	" " " "	3	—	+	0 " nicht normal eingetreten
5)	" " " "	4	+++	+++	0 " beendet
6)	" " " "	5	+++	+++	0 " "
7)	" " " "	6	+++	+++	0 " "
8)	" " " "	7	++	+++	0 " "
9)	" " " <i>Micrococcus</i>	1	—	—	—
10)	" " " "	2	+	++	+++
11)	" " " Hefe	1	—	+	+++
12)	" " " "	2	+	++	+++
13)	" " " <i>Oidium spec.</i>	+	++	+++	0
14)	" " " hefeabschnürendem Fadenpilz	—	—	—	—

Nach diesem Versuch wirkten am besten die Bakterienarten 2, 4, 5, 6 u. 7 und das *Oidium*, während ein *Micrococcus* und der hefeabschnürende Fadenpilz überhaupt nicht die Entwicklung von *Pl. pectinovorum* zu veranlassen im stande waren. Die Tatsache, daß der Rösterreger für sich allein nicht die Fähigkeit hatte zu wachsen, beweist die Exaktheit des Versuches.

Daß die Nebenorganismen auch eine bedeutungsvolle Rolle bei der Stickstoffversorgung des *Plectridium pectinovorum* spielen, wurde schon auf p. 184 u. 307 näher dargelegt.

Inwieweit sie ferner durch Wegnahme schädlicher Stoffwechselprodukte die Gärungserreger in ihrem Wachstum fördern, wird auf p. 321 f. erörtert werden.

4. Die bei der Wasserröste sich abspielenden Prozesse.

Um den Röstprozeß, wie er in den Bassins einer großen Flachsröstanstalt sich abspielt, eingehend sowohl bakteriologisch als auch chemisch zu studieren, hätten diese Untersuchungen an Ort und Stelle ausgeführt werden müssen. Dazu fehlte leider die Gelegen-

heit, beispielsweise konnten die sich entwickelnden Gase nicht analysiert werden. Indessen hat schon Hodges¹⁾ nachgewiesen, daß sie nur aus Wasserstoff, Stickstoff und Kohlensäure bestehen, wobei der Stickstoff aus der atmosphärischen Luft stammen dürfte, wenngleich die Denitrifikation des nach Behrens²⁾ anfänglich vorhandenen Salpeters ihn ebenfalls wenigstens zum Teil geliefert haben kann. Uebrigens konnte ich in dem ersten Quellwasser des zu röstenden Flachses Salpetersäure nicht nachweisen, dagegen reduzierte dasselbe ziemlich erheblich Fehlingsche Lösung und enthielt demnach Zucker. Nach Hodges¹⁾ soll der trockene reife Lein auch Stärke enthalten. Auf deren Kosten und auf Kosten des in Lösung gehenden Zuckers entwickeln sich wahrscheinlich auch die stets zahlreich zu bemerkenden Clostridien. Es ist nicht ausgeschlossen, daß dadurch die Plektridien anfänglich zurückgedrängt werden, aus mehrfach erwähnten Gründen vielleicht nicht zum Vorteil des Prozesses.

Wichtig war die Feststellung, ob und in welchen Mengen bei der technischen Röste die organischen Säuren, die Hauptprodukte der Pektinvergärung, entstehen. Ich verdanke es der Freundlichkeit des Herrn Betriebsdirektors Dr. Schäfer, daß ich zur Lösung dieser Frage die Röstflüssigkeit einer im kleinen ausgeführten Fabrikröste in regelmäßigen Intervallen untersuchen konnte. Die Röste, aus der die Proben stammten, war unter den dabei herrschenden günstigen Bedingungen bereits in 3 Tagen abgelaufen, so daß ich Röstflüssigkeit von 24, 48 u. 72 Stunden Röstdauer untersuchte, die Flüssigkeit von 72 Stunden sogar von 2 Versuchen.

Die Analysen wurden in Bezug auf die Bestimmung der Alkohole, flüchtigen und nichtflüchtigen organischen Säuren genau so ausgeführt wie auf p. 308 ff. angegeben, außerdem wurde aber die Acidität vor und nach dem Vertreiben der Kohlensäure bestimmt, und ferner zu entscheiden versucht, ob die Röstflüssigkeit etwa echte Pektinsäure oder das erste Umwandlungsprodukt derselben, Metapektinsäure, enthält, wie Kolb³⁾ es angibt. Diese Prüfungen wurden in der Weise ausgeführt, daß man die Röstflüssigkeit mit Aetzkalk kochte. Dabei mußte sich die Pektinsäure als Kalksalz ausscheiden und in den Niederschlag gehen, die Metapektinsäure hingegen in Form ihres löslichen Kalksalzes im Filtrat enthalten sein. Der Niederschlag wurde dann mit Salzsäure behandelt, das Ungelöste mit dünnem Ammoniak ausgezogen und das klare Filtrat wieder mit Salzsäure gefällt. Erst dieser Niederschlag wurde der Prüfung auf Pektine unterworfen, d. h. die Feststellung, ob er wirklich Pektinsäure sei, davon abhängig gemacht, daß 1) nach der Hydrolyse mit Salzsäure Reduktionsfähigkeit vorhanden war, und 2) die Destillation mit Salzsäure die Gegenwart von Pentosen erwies.

Zur Isolierung der Metapektinsäure wurde das Filtrat mit Kohlensäure vom überschüssigen Kalk befreit, auf ein enges Vo-

1) Hodges, Ueber die beim Rösten des Flachses entwickelten Gase etc. (Chem. Gazette. Dez. 1855. No. 291; Ref. in Wagners Jahresber. über die Fortschritte der chem. Technologie. Bd. II. 1856. p. 290.)

2) Behrens a. a. O.

3) Vgl. Behrens a. a. O.

lumen eingedampft und das klare Filtrat nach dem Ansäuern mit Essigsäure¹⁾ mit so viel Alkohol versetzt, daß die Flüssigkeit 66 Proz. enthielt. Die sich abscheidenden Flocken, die neben anorganischen Salzen die eventuell vorhandene Metapektinsäure enthalten mußten, wurden in gleicher Weise wie die Pektinsäure näher untersucht.

1. Röstflüssigkeit von 24 Stunden Röstdauer.

Anzahl der auf Fleischpeptongelatine gedeihenden Organismen in 1 ccm: ca. 250 Millionen Keime.

Acidität: Vor dem Vertreiben der Kohlensäure erfordern

10 ccm $\frac{1}{10}$ n. KOH 50,8 ccm Röstflüssigkeit.

Nach dem Vertreiben der Kohlensäure erfordern

10 ccm $\frac{1}{10}$ n. KOH 74,5 ccm Röstflüssigkeit.

Alkohole: Spuren eines den typischen Geruch des Wergs habenden Oeles.

Flüchtige Säuren.

No. der Fraktion	Menge des die Fraktion neutralisierenden Kalkwassers in ccm ²⁾	Summen der aufeinander folgenden Werte	In Prozenten	Für 1 Mol. Essigsäure und 1 Mol. Buttersäure gibt Duclaux die theoret. Werte
1	8,38	8,38	12,7	—
2	7,80	16,18	24,5	—
3	7,30	23,48	35,5	35,2
4	6,90	30,38	46,0	46,0
5	6,53	36,91	55,9	55,7
6	6,15	43,06	65,2	65,0
7	5,85	48,91	74,0	73,7
8	5,55	54,46	82,4	82,2
9	5,55	60,01	90,9	—
10	6,05	66,06	100,0	—

Darnach enthält diese Röstflüssigkeit äquimolekulare Mengen Essigsäure und Buttersäure, und es berechnen sich für 100 ccm

0,0667 g Essigsäure

und 0,0979 „ Buttersäure

Sa. 0,1646 g flüchtige Säuren.

Bernsteinsäure fehlt, Milchsäure spurenweise vorhanden.

Pektinsäure } die erhaltenen Niederschläge erwiesen sich frei
Metapektinsäure } von Pektinstoffen.

2. Röstflüssigkeit von 48 Stunden Röstdauer.

Anzahl der Organismen in 1 ccm: 30 Millionen.

Acidität: Mit CO_2 : 10 ccm $\frac{1}{10}$ n. KOH = 30,7 ccm Röstflüssigkeit

Ohne „ : „ „ „ = 48,1 „ „

Alkohole: wie bei 24 h.

1) Vgl. Scheibler, Berichte der Deutschen chem. Gesellschaft. Bd. VI. p. 612.

2) Hier wie bei allen nachfolgenden Analysen entspricht 1 ccm Kalkwasser

0,001 973 g Essigsäure

0,002 893 „ Buttersäure

0,003 353 „ Valeriansäure.

Flüchtige Säuren.

No. der Fraktion	Menge des jede einzelne Fraktion neutralisierenden Kalkwassers in ccm	Summen	In Prozenten	Für 12,2 Mol. Essigsäure u. 10 Mol. Buttersäure berechnen sich theoretische Werte
1	11,30	11,30	12,1	12,0
2	10,65	21,95	23,5	23,5
3	10,05	32,00	34,3	34,3
4	9,40	41,40	44,4	44,6
5	9,10	50,50	54,2	54,3
6	8,65	59,15	63,4	63,5
7	8,40	67,55	72,5	72,4
8	8,10	75,65	81,1	81,2
9	8,40	84,05	90,2	90,1
10	9,18	93,23	100,0	—

Das Verhältnis 12,2 Mol. Essigsäure : 10 Mol. Buttersäure ist ein konstantes und daher diese Säuren auch wirklich nur vorhanden.

Darnach enthalten 100 ccm Röstflüssigkeit

0,1046 g Essigsäure
und 0,1257 „ Buttersäure
Sa. 0,2303 g flüchtige Säuren.

Die Prüfung auf Bernstein und Milchsäure mißglückte. Pektinsäure und Metapektinsäure nicht nachzuweisen.

3. Röstflüssigkeit von 72 Stunden Röstdauer.

Anzahl der Organismen in 1 ccm : 10 Millionen.

Acidität: Mit CO_2 10 ccm $\frac{1}{10}$ n. KOH = 23,5 ccm Röstflüssigkeit.

Ohne „ „ „ „ „ „ = 34,0 „ „

Alkohole: wie bei 24^b.

Flüchtige Säuren.

No. der Fraktion	Menge des jede einzelne Fraktion neutralisierenden Kalkwassers in ccm	Summen	In Prozenten	Essigsäure : Buttersäure :	Theoretische Werte für 27 Mol. Essigsäure, 20 Mol. Buttersäure u. 1 Mol. Valeriansäure
1	14,15	14,15	12,0	1,32	12,1
2	13,40	27,55	23,0	1,36	23,6
3	12,95	40,50	33,8	1,28	34,4
4	12,20	52,70	44,0	1,33	44,6
5	11,90	64,60	54,0	1,27	54,3
6	11,15	75,75	63,3	1,25	63,5
7	11,00	86,75	72,5	1,19	72,3
8	10,55	97,30	81,3	1,14	81,0
9	10,90	108,20	90,4	1,10	90,0
10	11,45	119,65	100,0	—	100,0

Wie die 5. Reihe zeigt, erwies sich bei dieser Flüssigkeit der Faktor $\frac{\text{Essigsäure}}{\text{Buttersäure}}$ nicht als konstant, und gleichzeitig ließ sich aus den Zahlen ablesen, daß eine höhere Säure, die schneller als Buttersäure destilliert, in geringer Menge vorhanden sein mußte. Das Verhältnis: 27 Mol. Essigsäure zu 20 Mol. Buttersäure zu 1 Mol. Valeriansäure entspricht ungefähr den Tatsachen, wie aus der genügenden Uebereinstimmung zwischen den gefundenen und berechneten Werten hervorgeht.

In 100 ccm Röstflüssigkeit sind darnach enthalten:

0,1376 g Essigsäure
0,1488 „ Buttersäure
0,0086 „ Valeriansäure

Sa 0,2950 g flüchtige Säuren.

Bernsteinsäure und Milchsäure in Spuren vorhanden.

Die mit großen Mengen Rostflüssigkeit ausgeführte Untersuchung auf Pektinsäure und Metapektinsäure ergab keine Anhaltspunkte für die Gegenwart dieser Substanzen. Sonderbarer Weise entwickelte der an Stelle der Pektinsäure erhaltene melaninartige Körper bei der Destillation mit starker Salzsäure nicht unbeträchtliche Mengen von Schwefelwasserstoff.

Eine zweite Untersuchung einer Röstflüssigkeit von 72^h aus einer anderen Röste ergab die Anwesenheit von nur 2 flüchtigen Säuren, Essigsäure und Buttersäure im Verhältnis von 10,6 : 10 Mol.; hierbei waren in 100 ccm Röstwasser sogar enthalten

0,1714 g Essigsäure
0,2360 „ Buttersäure
Sa. 0,4074 g flüchtige Säuren.

Aus den vorstehenden Untersuchungen läßt sich kurz folgern:

1) Auch in dem Röstwasser des technischen Wasserröstprozesses finden sich dieselben nicht gasförmigen Gärungsprodukte, die der Rösterreger bei seiner Einwirkung auf Kohlehydrate oder Pektine hervorbringt.

Als Säureprodukte treten fast ausschließlich Essigsäure und Buttersäure in wechselnden Verhältnissen auf; die Bildung von Valerian- und Milchsäure, vielleicht auch Bernsteinsäure, tritt diesen gegenüber vollständig zurück. Die alte Angabe von Hodges, es würde bei der Flachsröste fast nur Buttersäure, kaum Essigsäure gebildet, muß entsprechend berichtigt werden.

2) Mit fortschreitender Röste nimmt sowohl die Menge der flüchtigen Säuren als auch, korrespondierend damit, die Acidität bedeutend zu, wie folgende Zusammenstellung klar erkennen läßt:

Acidität (in ccm Röstwasser, die 10 ccm $\frac{1}{10}$ n. KOH neutralisieren)

24 ^h	48 ^h	72 ^h
50,8	30,7	23,5

Menge der flüchtigen Säuren in g 0,165 0,230 0,295.

3) Die Acidität wird teilweise durch die Kohlensäure, zum größeren Teil durch freie Fettsäuren verursacht; denn die Berechnung zeigt, daß nur ein Teil der flüchtigen Säuren, etwa ein Viertel bis ein Drittel, gebunden ist.

4) Durch die stark zunehmende Acidität, verbunden mit der Giftwirkung der entstehenden Säuren, werden die anfänglich sehr zahlreich vorhandenen Nebenorganismen (250 Mill. pro 1 ccm) erheblich reduziert (auf 10 Mill. pro 1 ccm).

Wie zu erwarten, verändert sich dabei das Bild der Flora derart, daß mit fortschreitender Säuerung die säurewiderstandsfähigeren Arten (Coli-ähnliche) fast ausschließlich vorherrschen. Selbstverständlich trägt an dieser Verminderung auch die Abnahme der Nährstoffe schuld, aber daß vor allem die Zunahme der Acidität hemmend wirkt, wird durch die Tatsache bewiesen, daß sich durch Neutralisation eine bedeutende erneute Organismenentwicklung auslösen läßt.

5) Die Röstflüssigkeiten sind in jedem Zeitpunkt frei von Pektin- und Metapektinsäure. Diese Substanzen gehen demnach nicht in die Röstflüssigkeit über bzw. treten nicht als Umwandlungsprodukte auf, wie es Kolb von der Metapektinsäure angibt.

Da die Untersuchung der gleichzeitig mit den Röstflüssigkeiten entnommenen Flachsproben vorwiegend mikroskopisch zu erfolgen hatte, sind diese Resultate bereits auf p. 42 zusammengefaßt. Dieselbe ergab, daß während der Röste innerhalb des die Bastfasern umgebenden Parenchyms charakteristische Veränderungen vor sich gehen. Das Parenchym läßt sich an geröstetem Flachs sehr leicht von den Bastfasern trennen, und seine Zellwände haben fast vollkommen die Fähigkeit verloren, Rutheniumrot zu speichern. Der hieraus gezogene Schluß, es müsse während der Röste die aus Pektinsäure bestehende Mittellamelle geändert bzw. zerstört worden sein, ist nur dann zwingend, wenn gleichzeitig durch chemische Untersuchungen der zahlenmäßige Nachweis erbracht wird, daß der geröstete Flachs keine Pektinsäure mehr enthält oder dieselbe wenigstens stark vermindert worden ist. Dieser wichtige Nachweis ist bisher nicht erbracht worden. Durch Herrn Dr. Schäfer, Neusalz a/O., erhielt ich größere Mengen desselben Flachses sowohl in ungeröstetem Zustande, als auch mittelst der Wasserröste fabrikmäßig geröstetes Material. Da der Flachs allein durch die Auslaugung während der Röste über 60 Proz. an Gewicht verlor, konnten die Ausgangsmengen nicht direkt verglichen werden. Der Vergleich wird aber dadurch ein völlig exakter, daß man den Pektinsäuregehalt nicht auf die Ausgangsmengen, sondern auf das nach ganz gleicher Behandlung sich ergebende ausgelaugte Flachsstroh berechnet. Die Methode zur quantitativen Bestimmung der Pektinsäure schloß sich durchaus an das für die Gewinnung dieser Substanz bereits angegebene Verfahren an, d. h. es wurde als Pektinsäure nur die Substanz gerechnet, die sich aus dem ammoniakalischen Auszug des mit Wasser, verdünnter Natronlauge und dünner Salzsäure vorbehandelten Flachses mittelst Säure fällen ließ. Die voluminösen Niederschläge werden abfiltriert, sorgfältig ausgewaschen, wieder in dünnem Ammoniak gelöst und aliquote Teile in der Platinschale abgedampft, bei 100° getrocknet und gewogen. Während nun unbehandelter Flachs, auf 100 g ausgelaugtes Flachsstroh berechnet, 3,720 g Pektinsäure ergab, ließen sich aus der gleichen Menge des gerösteten und nochmals in gleicher Weise wie die unbehandelte Probe ausgelaugten Flachses nur mehr 1,568 g gewinnen, d. h. während der Röste sind 2,152 g Pektinsäure = 57,85 Proz. zerstört worden. Dieser Schluß ist um so berechtigter, als sich zu keiner Zeit in der Röstflüssigkeit auch nur Spuren von Pektinsäure nachweisen ließen. Damit dürfte der endgültige Beweis erbracht sein, daß die Flachs-röste wirklich auf einer Zerstörung der Mittellamellensubstanz beruht, und es gilt nur noch die Frage zu beantworten, woher der auch im gerösteten Flachs noch vorhandene nicht unerhebliche Rest von 42,15 Proz. der Pektinsäure kommt. Zunächst konnte daran gedacht werden, daß diese restierende Substanz vielleicht ein schwerer zersetzbarer und bei der Gärung sich stets ergebender Rest der Pektinsäure sei. Indessen lieferte die Untersuchung hierfür nicht den geringsten Anhalt. Die Substanz zersetzte sich mit Salzsäure

mindestens ebenso leicht, wie die aus unbehandeltem Flachs gewonnene Pektinsäure und gab wie diese erhebliche Mengen Furfurol. Mit Salzsäure hydrolysiert reduzierte sie äußerst energisch Fehlingsche Lösung und die Oxydation mit Salpetersäure ließ gleichfalls Schleimsäure entstehen. Da dieser Körper außerdem auch noch von *Pl. pectinovorum* vergoren werden konnte, besteht demnach durchaus kein Anlaß, ihn für einen schwerer zersetzbaren Anteil der eigentlichen Pektinsäure zu halten. Die Antwort auf die Frage, warum nun diese Substanz im Röstprozeß nicht vergoren wurde, ergibt sich darnach sehr leicht. Die Technik läßt den Flachsrostprozeß natürlich nur solange vor sich gehen, bis die Lösung der Bastfasern erreicht ist. Zu diesem Zeitpunkt ist aber selbstverständlich noch nicht alle Pektinsäure vergoren, vor allem nicht diejenige, die an den Bastfasern selbst sitzt; denn wie meine Untersuchungen ergaben, enthält ja auch die Bastfasermittellamelle, trotzdem sie verholzt ist, Pektinsäure. Infolgedessen fand schon Kolb, daß dem fertigen Flachs Pektinsäure in Gestalt gelblicher Schuppen anhaftet und bildete sich auf Grund dieser Untersuchung die Meinung, es beruhe der Flachsrostprozeß auf einer Umwandlung der unlöslichen Pektose in lösliche Pektinsäure. Daß diese Anschauung nicht den Kern der Sache trifft, dürfte wohl durch den Nachweis, daß während der Röste bedeutende Mengen Pektinsäure verschwinden, erwiesen sein. Natürlich bleibt nach wie vor die Frage unberührt, ob die Zellmembran tatsächlich Pektose enthält und ob dieser Körper die Muttersubstanz für die Pektinsäure ist. Als sicheres Resultat darf ich jedoch aus meinen Untersuchungen folgern, daß die Wasserröste auf einer Zerstörung des größten Teils der Pektinsäure beruht.

5. Wege und Versuche zur Verbesserung der Wasserröste des Flachses.

Die Resultate der vorstehenden Untersuchungen veranlaßten zur Durchführung einer Reihe von Versuchen zur Verbesserung der Wasserröste, die in sächsischen und schlesischen Röstanstalten ausgeführt wurden.

Schon Prof. Behrens hat in seiner mehrfach erwähnten Arbeit auf die entwicklungshemmende Wirkung der freien Buttersäure selbst dem Erzeuger dieser Säure gegenüber hingewiesen. Er führt dabei unter anderem aus, daß ihm die Durchführung der Röste unter anaëroben Bedingungen erst gelang, als er, den in Winogradskys Veröffentlichung über die Arbeit von Friber angegebenen Vorschriften folgend, die gebildete Säure durch einen Zusatz von Kreide oder Soda neutralisierte.

Meine Untersuchungen zeigen, welche bedeutenden Mengen freier Säuren auch bei der technischen Röste trotz des durch den ungehindert zutretenden Luftsauerstoff angeregten Wachstums von vielen Millionen von Nebenorganismen auftreten. Demnach kann die Bildung der freien Säuren durch die Gegenwart der Nebenorganismen nicht verhindert werden, und es entsteht die Frage, ob diese

Mikroben überhaupt im stande sind, die gebildeten Säuren als Nahrung zu erwerten und damit wenigstens etwas zu verringern.

Ein Versuch zeigte mir, daß die sich spontan in der Röstflüssigkeit von Hanf, der mit der Reinkultur von *Pl. pectinovorum* vergoren war, entwickelnden Organismen ausschließlich die Essigsäure, die gleich den übrigen Säuren als neutrales Kalksalz vorhanden war, aufbrauchen konnten, dagegen wurden Buttersäure und Valeriansäure nicht angegriffen.

	Vor dem Wachstum von Nebenorganismen in 100 ccm Röstflüssigkeit	Nach dem Wachstum spontan sich entwickelnder Organismen in 100 ccm
Essigsäure	0,0532 g	0,0313 g
Buttersäure	0,0156 „	0,0167 „
Valeriansäure	0,0171 „	0,0193 „

Darnach werden Butter- und Valeriansäure selbst dann nicht angegriffen, wenn sie gebunden sind, und demzufolge kann mit Sicherheit geschlossen werden, daß diese Säuren in freier Form erst recht nicht durch die Nebenorganismen beseitigt werden. Bemerkenswert ist andererseits die Verringerung der Essigsäure.

Obgleich die allerdings sehr beschränkte günstige Wirkung der Nebenorganismen in dieser Richtung nicht verkannt werden soll, lehren doch schon die oben angeführten Analysen, daß die Säurebildung trotz der Gegenwart von 250 Mill. Organismen pro Kubikcentimeter mit fortschreitender Röste eine ganz erhebliche ist. Ihre schädliche Wirkung zeigt ja auch die rapide Abnahme der Keime, die bereits am 3. Tage von 250 Mill. auf 10 Mill. pro 1 ccm gesunken sind.

Wenn darnach die Nebenorganismen die sich bildenden schädlichen Säuren nicht zu beseitigen vermögen, mußte sich die Frage aufdrängen, ob die technische Röste nicht gleicherweise wie die Laboratoriumsröste durch Zusatz von säurebindenden Stoffen gefördert werden könne. Zahlreiche Versuche haben nun erwiesen, daß sich gerade durch die Beachtung dieses Punktes sehr wesentliche Verbesserungen der Röste erreichen lassen. Durch Beigabe von kohlensaurem Kalk, Soda oder selbst Aetznatron konnte die Röstzeit fast um die Hälfte verkürzt werden. Herr Dr. Schäfer, Neusalz a. O., ist zur Zeit damit beschäftigt, die beste Art und Weise der Neutralisation im großen unter wirklich praktischen Verhältnissen sorgfältig zu erproben. (Wie mir in letzter Zeit mitgeteilt wurde, hat sich namentlich die Anwendung der Soda in der großen Praxis durchaus bewährt und die Röstezeit von ursprünglich 100—120 Stunden auf 58 Stunden — im Durchschnitt von mehr als hundert Rosten — herabgedrückt, ohne daß sich eine Verminderung der Qualität bemerkbar gemacht hatte. Natürlich sind die einzelnen Flachse je nach ihrem Verhalten in der Probe-röste individuell zu behandeln.)

Ebenso wichtig wie die Bindung der Säuren erscheint die Zufügung der echten Gärungserreger, um das Vorhandensein der wirklichen Rösterreger nicht dem Zufall zu überlassen und den technischen Prozeß von vornherein vor einem Fehlschlagen der

Gärung zu bewahren. Außerdem hat man in dieser Beziehung die Möglichkeit, dem Röstorganismus durch künstliche Zucht das höchste Maß von Gärungstüchtigkeit zu verleihen, und endlich könnte der Gärungserreger mit Leichtigkeit von Anfang an in so großer Menge in die Röste eingeführt werden, daß er von vornherein die Vorherrschaft besitzt und daher äußerst schnell seine Aufgabe ausführt.

Zweifellos bedeutet die ungehinderte Vermehrung aller jener Clostridien- und Plektridienarten, die dem Röstgut anhaften, eine wesentliche Beeinträchtigung des Röstprozesses; denn nicht nur werden dadurch die echten Röstorganismen behindert, noch größer dürften die Schädigungen sein, die durch den Eintritt solcher Prozesse hervorgerufen werden, welche die Fasern selbst zerstören oder wenigstens angreifen. Dem vom Felde kommenden Flachs haften ja außer den Keimen der nützlichen Pektinvergärer auch diejenigen beispielsweise der Cellulosezerstörer an, die nach einer erst kürzlich bekannt gewordenen Mitteilung von Omelianski¹⁾ in der Tat im stande sind, die Faserbündel vollständig zu zerstören. Diese und ähnliche Bakterienarten werden aber umsomehr zur Geltung gelangen, je weniger sie durch andere Organismen behindert werden und je länger die Röste dauert.

Es muß darnach auch bei der technischen Wasserröste erstrebt werden, möglichst nur mit den Organismen zu arbeiten, die für den Röstprozeß unbedingt notwendig sind. Der Hinweis auf andere technische Prozesse, die in neuerer Zeit sehr zu ihrem Vorteil mit technischen Reinkulturen durchgeführt werden, dürfte in dieser Beziehung genügen. Alle bisher ausgeführten praktischen Versuche, bei welchen geprüft wurde

- 1) die Wirkung der eingepfropften Reinkultur von *Pl. pectinovorum* für sich allein;
- 2) die Wirkung der eingepfropften Reinkultur von *Pl. pectinovorum* im Verein mit Reinkulturen von ausgewählten Nebenorganismen;
- 3) die Wirkung der Einführung beider Organismengruppen bei gleichzeitiger Zugabe von Kalk oder Soda, um die entstehenden Säuren zu binden,

haben nun erwiesen, daß sich die Wasserröste in der Tat auf dem beschrittenen Wege wesentlich verbessern läßt. Nicht nur wurde eine sehr wesentliche Verkürzung der Röstzeit erreicht, sondern es scheinen auch Qualität wie Ausbeute vorteilhaft beeinflußt zu werden.

Wenn auch in erster Linie die Beigabe einer säurebindenden Substanz von Bedeutung war, so konnte doch festgestellt werden, daß auch die Kulturen allein den Prozeß dann begünstigten, wenn

1) Omelianski, W. L., Ueber die histologischen und chemischen Veränderungen in den Flachsstengeln unter dem Einfluß der Bakterien der Pektin- und Cellulosegärung. (Mündliche Mitteilung in der Sitzung vom 8. Nov. 1903 der Mikrobiologischen Gesellschaft zu Petersburg. — Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XI. 1904. p. 562.) Vergl. ferner die erst neuerdings erfolgte ausführlichere Mitteilung von L. Omelianski über diesen Gegenstand im Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XII. p. 33.

sowohl der Rösteereger als auch die Hilfsorganismen zugegeben wurden. Die einzeln gegebenen Bakterienarten waren dagegen von geringem Einfluß.

Bei einem in Neusalz a. O. von dem Betriebsleiter Dr. Schäfer der Firma J. D. Gruschwitz & Söhne ausgeführten Versuch war beispielsweise die Röstdauer

bei der normalen Röste ohne Zusatz	120	Stunden
bei Zugabe der Reinkultur allein	101	„
„ „ „ Nebenorganismen allein (Bakterien und Oidium)	104	„
„ „ „ Reinkultur + Nebenorganismen	83	„
„ „ „ von Kalkkarbonat allein	85	„
„ „ „ „ und Organismen (Reinkultur + Nebenorganismen)	75	„
„ „ „ Soda allein	75	„
„ „ „ „ und Organismen (Reinkultur + Nebenorganismen)	80	„

Wurden demnach eine säurebildende Substanz und die Organismen zugleich zugegeben, so trat im Mittel eine Beschleunigung der Röste kaum mehr ein.

In Anbetracht des Umstandes, daß in den Röstbehältern der Röstanstalten die bei dem Prozeß tätigen Organismen in großer Menge vorhanden sein müssen, könnte es darnach scheinen, als sei die Zuführung solcher Organismen höchst überflüssig, wenn nur für die tüchtige Entwicklung der vorhandenen Keime durch Unschädlichmachen der entstehenden Säuren genügend gesorgt wird. Zweifellos wird schon hierdurch die Hauptverbesserung erzielt, aber aus den schon oben näher dargelegten Gründen dürfte daneben die Zuführung der echten Gärungserreger und der unbedingt notwendigen Nebenorganismen doch von größter Bedeutung sein. Erst durch Anwendung sowohl der Neutralisation als auch der Impfung wird ein unbedingt sicherer und schneller Erfolg der Röste gewährleistet und damit auch die erstrebte Verbesserung erzielt.

Nur beiläufig sei noch darauf hingewiesen, daß es nunmehr auch geboten erscheint, alle jene Stoffe, die *Plectridium pectinovorum* bzw. die Nebenorganismen begünstigen könnten, auf ihre Wirksamkeit bei der technischen Röste zu prüfen. Hier wie in anderer Richtung ergeben sich nach diesen Vorarbeiten eine große Reihe von Versuchen.

6. Zusammenfassung und Schluß.

Die hauptsächlichsten Ergebnisse meiner Untersuchungen lassen sich in Kürze wie folgt zusammenfassen.

1) Die Wasserröste ist ein biologischer Prozeß, der nur durch die Mitwirkung bestimmter Organismen zu stande kommt.

2) Als Rösteerreger der Wasserröste des Flachses muß ein fakultativ anaërobes *Plectridium* bezeichnet werden. Dieses Bacterium vermag bei Luftabschluß diejenigen Pektinstoffe der Röstpflanzen, die den

Zellverband parenchymatischer Gewebe bedingen, zu vergären und damit eine Herauslösung der Bastfasern aus dem Pflanzengewebe zu veranlassen.

3) Der für den Eintritt der Gärung unbedingt erforderliche Sauerstoffabschluß wird durch bestimmte, sehr zahlreich sich entwickelnde, sauerstoffbedürftige Bakterien und Pilze, die *Nebenorganismen*, verursacht, die sämtlich nicht befähigt sind, für sich allein die Röste zu bewirken.

4) Die bei der Zersetzung der Pektinstoffe gebildeten Produkte sind einerseits Wasserstoff und Kohlensäure, andererseits organische Säuren, vornehmlich Essig- und Buttersäure, in geringen Mengen auch Valerian- und Milchsäure.

5) Infolge der Bildung dieser Säuren nimmt die Acidität der Röstflüssigkeit mit fortschreitender Zeit erheblich zu. Durch die Giftwirkung vornehmlich der Buttersäure tritt eine Benachteiligung der Organismenwirkung ein, die eine Verzögerung des Prozesses und damit wahrscheinlich auch andere Nachteile zur Folge hat.

6) Durch die Abstumpfung der Säuren mit Alkalien oder Kalk wird die giftige Wirkung derselben sehr erheblich herabgesetzt. Infolgedessen tritt die unter 5 geschilderte Benachteiligung der Röstorganismen sehr zurück und der Prozeß erfährt eine bedeutende Beschleunigung.

7) Um den wirklich wichtigen Organismen die Vorherrschaft während des Prozesses zu sichern, empfiehlt sich die Einimpfung derselben bei Beginn der Röste.

Dies dürften die Hauptergebnisse sein, die teilweise die Resultate anderer Forschungen nur bestätigen, teilweise jedoch auch neue sind.

Einige Worte möchte ich hier noch der Frage widmen, ob die von Friebes und mir isolierten Plektridien, die wahrscheinlich identisch sind, wirklich als die spezifischen Erreger der Wasserröste des Flachses zu bezeichnen sind, oder ob auch andere Organismen, beispielsweise Clostridien, im speziellen das von Behrens bei der Hanfröste beobachtete Clostridium, die technische Flachsröste zu bewirken imstande sind. Ich möchte mich dahin aussprechen, daß zwar gewisse Clostridien zweifelsohne pektinzersetzende und damit röstende Eigenschaften besitzen, daß sie aber darin den genannten Plektridien schon aus dem Grunde nachstehen, weil sie nur den Hexosekomplex der Pektine, nicht deren Pentoseteil vergären können. Auch die Tatsache, daß ein und derselbe Erreger an räumlich so weit getrennten Orten (Friebes in Petersburg — ich isolierte das *Plectridium pectinovorum* sowohl aus dem

Flachs einer sächsischen wie einer schlesischen Röstanstalt) gefunden wurde, spricht zu Gunsten der Anschauung, in den genannten Plektridien die typischen Erreger der Wasserröste des Flachses zu erblicken.

Nur beiläufig sei bemerkt, daß ich *Pl. pectinovorum* auch aus einem mittelst der Rasenrotte gerösteten Flachs gewann. Dadurch entsteht die Frage, ob es nicht auch bei diesem Prozeß einen gewissen Anteil an der Röste neben den Pilzen hat; denn die notwendigen anaëroben Bedingungen könnten ihm auch hierbei mit Leichtigkeit durch die übrigen, sehr zahlreich vorhandenen Organismen geschaffen werden. Diese Frage soll der Gegenstand weiterer Studien sein.

Endlich möchte ich meine Ausführungen nicht schließen, ohne noch auf eine andere wirtschaftliche Bedeutung der Pektinvergärer und im speziellen der Plektridien hinzuweisen. In einer bedeutungsvollen Arbeit über die Keimungsverhältnisse der Leguminosensamen¹⁾ hat Dr. Hiltner nachgewiesen, daß die Leguminosensamen nicht selten trotz genügender Keimfähigkeit eine beträchtliche Einbuße an ihrer Lebenskraft, im speziellen an Widerstandskraft gegen parasitäre Wirkungen aufweisen, die sie durch ungünstige Ernteverhältnisse etc. erlitten haben. In diesem Falle laufen sie bei Aussaat in gewissen zur Verkrustung neigenden oder sonstwie abnormen Böden auch nicht im entferntesten nach Maßgabe ihrer Keimfähigkeit auf, sondern gehen vielmehr vor oder während der Keimung durch Fäulnis zu Grunde. Dr. Hiltner wies als die eigentlichen Erreger dieses Faulens die Pektinvergärer nach, die begünstigt durch Pilze in die Samen eindringen und sie durch Zerstörung des Zellverbandes infolge Auflösung der Mittellamellen zur breiigen Fäulnis bringen.

Daß diese Auffassung richtig ist, konnte ich mit Hülfe der Reinkultur des *Pl. pectinovorum* exakt nachweisen. Eine Erbsenprobe, die ungeimpft nur 2 Proz. bakterienfaule Samen lieferte, ergab, als sie mit *Pl. pectinovorum* geimpft wurde, 20 Proz. solcher Samen. Auch diese wichtige Seite der wirtschaftlichen Bedeutung der Pektinvergärer wird in einer späteren Arbeit noch ausführlicher zu würdigen sein; vielleicht läßt sie sich auch zu einer sehr erwünschten Bereicherung der Methoden der Saatgutprüfung verwerten.

1) Regierungsrat Dr. Hiltner, Die Keimungsverhältnisse der Leguminosen und ihre Beziehung zur Organismenwirkung. (Arbeiten aus der Biol. Abt. für Land- und Forstwirtschaft am Kais. Gesundheitsamte. Bd. III. Heft 1. 1902. p. 1.)

Nachdruck verboten.

On the Tobacco Wilt Disease caused by a Bacteria.

By Y. Uyeda,

Plantpathologist of the Experimentstation Nishigahara, Tokio (Japan).

(Preliminary Notice.)

With 3 fig.

Since Erwin F. Smith of the U. S. Department of Agriculture furnished the final proofs for the existence of bacterial diseases of plants, the number of such diseases caused by bacteria that became known has steadily increased. The writer can furnish a further case inasmuch as a careful study of the so-called Tobacco Wilt Disease has furnished him the decisive proof that this malady is caused by a distinct species of microbes, which he proposes to name *Bacillus Nicotianae*. This disease causes much damage in Japan, especially in those cases in which the transplantation from



Fig. 1.

Diseased plant.

Healthy plant.

the seed bed is carried out rather late¹). Prolonged moist weather with following great heat will favor the development of the disease. The first symptom is the wilting and yellowing of the lower leaves, then follows a blackening of the stem and leaves and finally of the root. The plants are generally killed in about two weeks after the first symptoms were observed. The natural infection seems to take place generally through the roots, but very frequently also by the wounds caused by topping and suckering the plants towards the end of July. The microscopical examination reveals an im-



Fig. 2.
Healthy root.



Fig. 3.
Diseased root.

mense number of bacteria in almost a state of pure culture in the vascular bundles. The central part of the stem shows a rotten condition and contains a dark brown liquid. Finally the stem becomes hollow and the root is completely destroyed.

The bacteria observed were cultured pure and these bouillon cultures, diluted with five times the volume of water served for

¹ 1) This disease has also been observed in North Carolina. (Bulletin. No. 188. Raleigh, N. C., 1903.)

irrigating healthy tobacco plants in pots as well as in the field, in order to observe the infection in this way. In most cases the symptoms of the same disease became apparent in two weeks. This leaves no doubt, that the microbe observed is the real cause of the disease. Eggplants (*Solanum melongena*) remained healthy after such a treatment. A field that was infected three years ago with this microbe continued to produce the disease in most of the tobaccoplants (10 varieties) grown on that field up to the present time.

Our *Bacillus Nicotianae* shows the following characteristics:

- 1) Growth on gelatin streak culture very slow, not leaflike, forming a uniform pellicle, white at first, gradually blackening.
- 2) Gelatin is very feebly liquefied, taking about 5 weeks.
- 3) It produces some gas in glucose-agar or glucose-bouillon, and some rancid smell, but only little acid.
- 4) Saponifies milk.
- 5) Produces a yellow pigment on potatoes, gradually turning brown-gray.
- 6) Colonies on agar round and dirty white; gradually a brown pigment is produced diffusing beyond the colony which itself remains generally gray and shows concentric rings as it enlarges.
- 7) Grows best at 32° C.
- 8) Facultative anaerobic.
- 9) Produces no odor in pepton-bouillon.
- 10) This microbe is 0,6—0,9 μ wide and 1—1,2 μ long, generally bearing 8 flagella.

This organism bears no doubt some relation to the *Bac. solanacearum* of Erwin F. Smith, but while this does not attack *Nicotiana*¹⁾ but *Solanum melongena*, our microbe shows just the opposite behavior.

Post-scriptum.

Since the above communication was written some further experiment was finished which proved that the bacteria in question can also enter the tobacco plant through ordinary stomata. A spray of a pure culture of *Bacillus Nicotianae* was applied to healthy leaves of young tobacco plants about 25 cm high. After 8 days a blackening was observed along the veins of the leaves which extended more and more. The microscopical examination showed the presence of enormous amounts of the same bacteria especially in the pitted vessels. Dr. Erwin F. Smith²⁾ has already shown a other case in which infection by bacteria takes place through ordinary stomata. *Pseudomonas pruni* Smith, a yellow bacterium, enters the leaves and green fruits of the Japanese plums through the ordinary stomata.

1) U. S. Depart. of Agriculture. Bulletin No. 12. p. 20.

2) Science. N. S. Vol. XVII. 1903.

Nachdruck verboten.

Ueber eine bisher unbekannte Art der Kernobstfäule, verursacht durch *Fusarium putrefaciens* nov. spec.¹⁾.

Von Dr. A. Osterwalder,

Assistent an der Schweiz. Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädenswil (Abteilung für Pflanzenphysiologie und Pflanzenpathologie).

Mit 2 Tafeln.

(Schluß.)

Die Reinkultur des Pilzes. Da wir beim Beginn unserer Untersuchungen umsonst nach den Sporen suchten, um von denselben aus Reinkulturen des Fäulnispilzes zu erhalten, benutzten wir als Ausgangsmaterial, wie es in solchen Fällen geschieht, eine ca. 1 cmm große Masse infizierten Fruchtfleisches, die wir unter den üblichen Vorsichtsmaßregeln aus dem Innern eines fusariumfaulen Apfels entnahmen und in Nährgelatine (15-proz. Gelatine + ca. 7 Proz. sizilianischer Traubensaft von ca. 70° Oechsle) übertrugen. Innerhalb weniger Tage bildet sich in diesem Nährsubstrat ein kräftiges Mycelium, dessen Hyphen aus der Gelatine herauswachsen und ein üppiges Luftmycel bilden. So entsteht nach und nach in der Kulturschale eine zusammenhängende wollige Decke, unter der die Gelatine binnen kurzer Frist verflüssigt. Die Sporenbildung ist noch sehr spärlich. Werden dann aber aus dieser ersten Gelatinekultur Mycelstücke in frische Nährgelatine derselben Art übertragen, so tritt vermehrte Sporenbildung auf, was wir in Zusammenhang mit Sporen bringen möchten, die mit dem Infektionsmaterial in die Gelatine gebracht wurden. In den feuchten Glaskammern, wo wir Sporen in dasselbe Nährmedium ausgesäet haben, keimten dieselben nämlich im Verlauf des ersten Tages und schon nach 4 Tagen erzeugte das neugebildete Mycel wieder zahlreiche Sporen. Nach unseren Beobachtungen vermögen die Sporen von dem Apfel-*Fusarium* viel leichter wieder Sporen zu bilden als Mycelfragmente ohne Sporen. Der Sporenstand ist nicht leicht in wenigen Worten zu beschreiben. Besser vermögen wohl die beigegebenen Figuren ein richtiges Bild davon zu geben. Am deutlichsten ist die Anordnung der Sporen noch am Luftmycel zu erkennen, wo dieselben in der Mehrzahl auf Seitenzweigen, die wir als „Basidien“ bezeichnen, abgeschnürt werden (Fig. 7, 8, 10). In der Nährgelatine entstehen so durch fortwährende Abschnürung Sporenhäufchen (Fig. 9). Bei längerer Kultur und wiederholter Uebertragung in frische Nährgelatine treten auch die sogenannten Sporodochien oder Sporenlager auf, wie dieselben für die Gattung *Fusarium* charakteristisch sind (Fig. 11). Sie sind ursprünglich klein, wachsen dann aber innerhalb 2–3 Wochen zu mehrere Millimeter langen und breiten orangeroten Häufchen heran mit einer Unzahl von Sporen, deren Anordnung etwas abweicht von der soeben erwähnten der Luftmycels (Fig. 12). Als auffallende Erscheinung mag hier angeführt werden, daß in derselben 15-proz.

1) Siehe auch: Mitteilungen der Thrg. Naturforscher-Gesellschaft. 1894.

Gelatine + ca. 7 Proz. Theilersbirnensaft die Sporodochien in größerer Zahl auftreten als in der Traubensaftgelatine. Während in der einen Kulturschale mit Traubensaftgelatine nur 4 Sporodochien sich bildeten, zählten wir auf einer gleichgroßen Fläche Theilersbirnensaftgelatine deren 40. Wir werden bei Besprechung der Infektionsversuche sehen, wie auf Birnen die Sporenbildung leichter eintritt als bei den Äpfeln. Bei sämtlichen künstlich infizierten Birnen, die entzweigesechnitten und entweder an der freien Luft oder im feuchten Raume liegen gelassen wurden, bildeten sich innerhalb weniger Tage auf der Schnittfläche um die Infektionsstelle herum die Sporodochien in Form einer größeren zusammenhängenden orangeroten Decke mit Millionen von Sporen, während die gleiche Erscheinung bei den gleich behandelten Äpfeln nie eintrat. In Anbetracht dieser Tatsache werden wir auch eher den fördernden Einfluß der Theilersbirnensaftgelatine auf die Sporenbildung begreifen, wenn wir auch noch nicht wissen, welchem Bestandteil des Birnsaftes speziell die fördernde Wirkung zukommt.

Die Sporen erreichen in der Nährgelatine durchschnittlich größere Dimensionen als auf ihrem natürlichen Substrat. Wir haben Sporen bis zu $61\ \mu$ Länge gemessen, während die große Mehrzahl derselben in der Länge zwischen $37\text{--}49\ \mu$ schwankt und ein- und zweizellige keimende Sporen nur $9,76\ \mu$ Länge erreichen. Größte Breite $2,44\text{--}3\ \mu$. Teils sind sie sichelförmig gebogen, teils gerade. Auch variieren sie sehr in der Zahl der Scheidewände. Doch haben wir in der Nährgelatine deren nie mehr als auf der faulen Frucht beobachtet, nämlich bei der einzelnen Spore höchstens 5, wodurch die Spore in 6 Kammern zerfällt (Fig. 13). Jüngere Sporen, die noch mit den Basidien in Verbindung stehen, sind meist noch nicht septiert (Fig. 10). Infolge der ungleichen Länge und ungleichen Septierung treten bei unserem *Fusarium* am gleichen Mycel so heterogene Gebilde auf, daß man, wenn nicht durch die Methode eine Verunreinigung ausgeschlossen wäre, oft die Reinheit der Kultur in Zweifel ziehen möchte. Besonders hervorzuheben ist die Tatsache, daß auch die 1, 2, 3, 4 und 5zelligen Sporen zu keimen vermögen (Fig. 24—27), daß also die Reife der Spore nicht mit der Scheidewandbildung zusammenhängt. In den Sporodochien auf Schnittflächen von Birnen haben wir wiederholt einzellige keimende Sporen angetroffen.

Neues können wir zu der bereits studierten Keimungsgeschichte anderer Fusarien, wie von *Fusarium gemmiperda*, *Fusarium nivalis*, nicht hinzufügen. Bei den Sporenkulturen in den feuchten Glaskammern keimten viele der innerhalb 4 Tagen neugebildeten Sporen schon im Verlauf von weiteren 3 Tagen wieder. Ebenso beginnen die Sporen in den erwähnten Sporodochien auf Birnen binnen wenigen Tagen Keimschläuche zu bilden. Jede Spore bildet einen oder mehrere Schläuche zugleich, die aus den verschiedenen Fächern treten (Fig. 20 u. 23). Sehr häufig sieht man Keimungsbilder, wie sie Fig. 27 darstellt, wo eine Endzelle der Spore in der Richtung der Längsachse auswächst. Wie bei den Sporen von *Fusarium nivalis* treten zwischen den keimenden

Sporen oder deren Keimschläuchen häufig Anastomosen auf (Fig. 28). Chlamydosporen konnten nicht beobachtet werden.

Auch in der Nährgelatine treten fettige Degeneration des Mycels und Rotfärbung desselben auf; ganz besonders intensiv rot färben sich jeweilen die Mycelstücke, die als Infektionsmaterial Verwendung fanden, also die ältesten Parteen des Mycels in Nährgelatine. Im sizilianischen Traubensaft von 70° Oechsle, den wir ebenfalls mit *Fusarium*-Mycel infizierten, entwickelt sich zunächst ein kräftiges Mycel, das, an der Oberfläche der Flüssigkeit angelangt, eine weiße Decke mit dicht ineinander verflochtenen Fäden bildet und eine zunderartige Masse darstellt. Die untere Schicht dieser Decke ist scharlachrot, die obere weiß oder stellenweise gelb gefärbt und besteht, wie das Luftmycel auf der Oberfläche des Danziger Kant-Apfels, aus Hyphen, die sich durch außerordentlich reichen Plasmagehalt und die Formenmannigfaltigkeit ihrer Zellen auszeichnen. Keulenförmige, blasenförmige Zellen und solche mit den barocksten Formen treten hier auf, alle reichlich mit Plasma gefüllt, was man wohl kaum, gerade der letzteren Erscheinung wegen, als Degeneration bezeichnen kann (Fig. 5). Sporen haben wir auf dieser Decke nicht finden können.

Infektionsversuche. Zur Infektion benützten wir Mycel von Reinkulturen auf Gelatine, wobei die Gegenwart von Sporen nicht ausgeschlossen war. Bei der Ausführung der Versuche schlugen wir zwei verschiedene Wege ein; bei den einen Früchten wurde das Mycel in eine mit der Lanzettnadel geritzte Wunde der vorher sorgfältig gereinigten Oberhaut gebracht (Hautinfektion); bei den anderen dagegen schnitten wir mit dem sterilisierten Messer tief in das Fruchtfleisch nach der Fruchtachse hin, um dann den in der Mitte zwischen Fruchtachse und Oberhaut gelegenen Teil der Schnittfläche mit dem Mycel zu infizieren (Schnittflächeninfektion). Die Früchte, die bei den Infektionsversuchen Verwendung fanden, wurden unter Glasschalen, die mit feuchtem Filtrierpapier ausgeschlagen waren, aufbewahrt und namentlich in den ersten Tagen nach der Infektion sehr feucht gehalten. Beim Danziger Kant-Apfel, der zunächst als Versuchsobjekt diente, gelangen die Infektionen durchweg, sowohl auf der Haut als auf den Schnittflächen. Immerhin ist beachtenswert, daß bei der Schnittflächeninfektion die Fäulnis größere Fortschritte machte als bei der Hautinfektion, was wohl weniger mit der größeren Verwundung als mit der ungleichen chemischen Zusammensetzung der verschiedenen Parteen der Früchte zusammenhängen mag. Die gleiche Erscheinung zeigte sich auch bei anderen Aepfel- und Birnensorten, wo das Mycel immer schneller nach dem Samengehäuse hin sich ausbreitete als gegen die Oberhaut hin. Die Kernhauspartie scheint für den Pilz ein günstigerer Nährboden zu sein als die anderen Teile der Frucht, wie ja auch die schon erwähnte Tatsache, daß die Fäulnis meist in der Kernhauspartie beginnt, zum Teil dafür spricht. Was die Verteilung von Zucker, Säure und Gerbstoff in Birnen anbetrifft, so hat Kelhofer¹⁾ nachgewiesen, daß Zucker in der mittleren Partie,

1) Kelhofer, Ueber die Verteilung von Zucker, Säure und Gerbstoff in den Birnenfrüchten. (V. Jahresbericht der deutsch-schweizerischen Versuchstation u. Schule für Obst-, Wein- u. Gartenbau in Wädenswil. 1894/95. p. 108.)

der sogenannten Fleischpartie der Frucht, in größter Menge vorhanden ist, in geringerer Menge in der Rinde und in noch geringerem Maße in der Kernhauspartie auftritt. Die Säure findet sich ebenfalls in der Fleischpartie am reichsten vor, weniger im zentralen Teile der Frucht und in geringster Menge in der Rinde. Der Gerbstoff nimmt von der Peripherie nach dem Zentrum der Frucht ab. Das Maximum an Gerbstoff ist in der Rinde enthalten, weniger reich daran ist die Fleischpartie, und das Minimum weist die Kernpartie auf. Von Äpfeln liegen uns noch keine diesbezüglichen publizierten Resultate vor; dagegen sollen nach einer freundlichen mündlichen Mitteilung von Herrn Kelhofer bei einer großen Anzahl von Sorten, unter anderem auch beim Danziger Kant-Apfel, die Verhältnisse gleich liegen, mit Ausnahme der Säure, die von der Rindenpartie nach dem Kernhaus hin zunimmt. Die Vermutung liegt nahe, daß hier der Gerbstoff, der ja als wachstumshemmendes Mittel für Pilze bekannt ist, eine Rolle spielt und die Kernhauspartie gerade des geringen Gehaltes an Gerbstoff wegen das Wachstum von *Fusarium* begünstigt.

Ueber die Geschwindigkeit des Fäulnisvorganges beim Danziger Kant mögen folgende Angaben Aufschluß geben. Am 4. November 1903 wurden 2 Äpfel auf der Schnittfläche mit Mycel infiziert. Am 6. November war an der Infektionsstelle des einen eine braune Faulstelle von ca. $\frac{1}{2}$ cm Durchmesser sichtbar. Am 16. November betrug beim einen Apfel der Durchmesser des Fleckens 3 cm, beim anderen 2 cm. Bei beiden Früchten war das Mycel nach dem Samengehäuse hin gewachsen und hatte die Samen umspinnen. Am 24. November hatte die Fäulnis eine Strecke von ca. $5\frac{1}{2}$ cm Länge ergriffen; am 10. Dezember waren beide Äpfel faul. Bei zwei Hautinfektionsversuchen am 16. November hatte am 17. Dezember der Faulfleck des Apfels A einen Durchmesser von ca. 3 cm, der Faulfleck des Apfels B einen Durchmesser von 4 cm erreicht. Der Fäulnispilz war 4 cm tief eingedrungen. Am 31. Dezember waren beide Äpfel, mit Ausnahme einer gesunden Partie von ca. 1 cm Durchmesser, faul.

Ueber die Ausdehnung der Fäulnis und über Disposition für *Fusarium*-Fäule bei anderen Äpfelsorten, sowie bei Birnen möge nachsteheude Tabelle orientieren. Die künstliche Infektion wurde am 21. November 1903 ausgeführt. (Siehe Tabelle A u. B p. 334, 335.)

Infektionsversuche mit Sporen auf der unverletzten Oberfläche vom Danziger Kant-Apfel fielen negativ aus. Unser Fäulnispilz verhält sich also in dieser Beziehung wie andere Fäulniserreger bei Kernobst, deren Mycelium ebenfalls nicht im stande ist, durch die unverletzte Epidermis einzudringen. Da die *Fusarium*-Fäule meist im Innern des Kernhauses beginnt und anzunehmen ist, daß die Ansteckung durch die offene Stempelröhre geschieht, so brachten wir Sporen aus einem Sporodochium mittelst eines Kapillarröhrchens auf die Kelchöffnung einzelner Danziger Kant-Äpfel, also auf die äußere Mündung der Stempelröhre. Die betreffenden Äpfel wurden in der feuchten Kammer aufbewahrt. Nach 14 Tagen wurden die Früchte zerschnitten. Bei einem einzigen Apfel war das Samen-

A. Äpfel.

Am 26. November 1903	Am 3. Dezember 1903	Am 15. Dezember 1903
<p>Usterapfel. Hautinfektion von Apfel A: Faulfleck von ca. 5 mm Durchmesser.</p> <p>Schnittflächeninfektion: Bei Apfel B ist das Gewebe etwas alteriert.</p>	<p>Hautinfektion: Faulfleck von ca. 2 1/2 cm Durchm.</p> <p>Schnittflächeninfektion: Bei Apfel C sind auf den Schnittflächen braune Flecken von ca. 1 cm Durchmesser und 1/2 cm Tiefe wahrzunehmen.</p>	<p>Hautinfektion: Fast die eine Hälfte des Apfels ist faul. Das faule Fruchtfleisch schmeckt bitter.</p>
<p>Boikenapfel. Hautinfektion von Apfel A: Die Impfwunde ist ganz wenig gebräunt.</p> <p>Schnittflächeninfektion: Auf den Schnittflächen von Apfel B befinden sich Faulflecken von ca. 2 cm Durchmesser und 1/2 cm Tiefe. Die Faulstelle dehnt sich gegen das Samengehäuse hin aus.</p>	<p>Hautinfektion: Faulstelle von ca. 1 1/2 cm Durchm.</p> <p>Schnittflächeninfektion: Auf den Schnittflächen von Apfel C befinden sich Faulflecken von ca. 2 cm Durchmesser.</p>	<p>Hautinfektion: Faulfleck von 4 1/2 cm Durchmesser. Das faule Fruchtfleisch schmeckt bitter.</p>
<p>Gelber Bellefleur. Hautinfektion von Apfel A: Faulfleck von ca. 7 mm Durchmesser. Dichtes Mycel wächst zur Impfstelle heraus.</p> <p>Schnittflächeninfektion: Auf den Schnittflächen von Apfel B Faulstellen von ca. 1 1/2 cm Durchmesser u. ca. 2 mm Tiefe. Das Mycel wächst gegen das Samengehäuse hin.</p>	<p>Hautinfektion: Eingesunkener Faulfleck von ca. 2 1/2 cm Durchmesser. Weißes und gelbes Mycel wächst zur Impfwunde heraus.</p> <p>Schnittflächeninfektion: Apfel C ist vom <i>Penicillium glaucum</i> infiziert.</p>	<p>Hautinfektion: Faulfleck von ca. 5 cm Durchmesser. Der faule Apfel schmeckt bitter.</p>
<p>Fressers Erstling. Hautinfektion von Apfel A: Auf der Oberfläche zeigt sich fast gar keine Verfärbung.</p> <p>Schnittflächeninfektion: Beim Apfel B ist die Faulstelle ca. 2 cm lang, 1 cm breit und ca. 2 mm tief.</p>	<p>Hautinfektion: Faulfleck von ca. 1 cm Durchmesser.</p> <p>Schnittflächeninfektion: Beim Apfel C Faulfleck von 1 cm Durchmesser und ca. 1/2 cm Tiefe.</p>	<p>Hautinfektion: Faulfleck von ca. 3 cm Durchmesser.</p>
<p>Bismarckapfel. Hautinfektion von Apfel A: Auf der Oberfläche zeigt sich fast gar keine Verfärbung.</p> <p>Schnittflächeninfektion: Beim Apfel B Faulfleck von ca. 2 mm Durchm.</p>	<p>Hautinfektion: Faulfleck von ca. 1 1/2 cm Durchmesser. Aus der Impfwunde wächst weißes und gelbes Mycel.</p> <p>Schnittflächeninfektion: Beim Apfel C sind die Schnittflächen wenig alteriert.</p>	<p>Hautinfektion: Faulstelle verunreinigt durch <i>Penicillium glaucum</i>.</p>

gehäuse gebräunt, sowie dessen nächste Umgebung faul (Fig. 31). Das gebräunte Fruchtfleisch schmeckte bitter und war von Mycel durchwuchert, das wir zuerst von den *Fusarium*-Sporen herleiten

B. Birnen.

Am 26. November 1903	Am 3. Dezember 1903	Am 15. Dezember 1903
<p>Diels Butterbirne. Hautinfektion von Birne A: Faulfleck von ca. $\frac{1}{2}$ cm Durchmesser. Schnittflächeninfektion: Auf den Schnittflächen von Birne B Faulflecken von 1 cm Durchmesser und 2 mm Tiefe. Luftmycel auf den Faulstellen scharlachrot.</p> <p>Liegels Butterbirne. Hautinfektion von Birne A: Faulfleck von ca. 1 cm Durchmesser. Grüngelbes Mycel wächst aus der Impfstelle. Schnittflächeninfektion: Birne B. Faulfleck von ca. $2\frac{1}{2}$ cm Durchmesser und $\frac{1}{2}$ cm Tiefe. Um die Infektionsstelle herum wächst scharlachrotes Luftmycel.</p> <p>Jaminette. Hautinfektion von Birne A: Faulfleck von ca. 1 cm Durchmesser. Das Mycel wächst zur Impfwunde heraus. Schnittflächeninfektion: Birne B. Auf der Schnittfläche zwischen Fruchtachse und Epidermis sind ca. $\frac{2}{3}$ gebräunt und faul. Um die Infektionsstelle herum wächst rotes Mycel.</p>	<p>Hautinfektion: Faulstelle eingesunken, ca. 3 cm Durchmesser. Aus der Infektionsstelle wächst grüngelbes Mycel mit Sporen, deren Scheidenwände nicht immer sichtbar sind. Schnittflächeninfektion: Birne C. Das Mycel ist bis zur Fruchtachse vorgedrungen. Jede Schnittfläche ist zur Hälfte und ca. 1 cm tief gebräunt und faul.</p> <p>Hautinfektion: Faulfleck von ca. 4 cm Durchmesser und $2\frac{1}{2}$ cm Tiefe. Grüngelbes und rotes Mycel mit zahlreichen Sporen wächst aus der Infektionsstelle und den benachbarten Lenticellen heraus. Die faule Birne schmeckt nicht bitter. Schnittflächeninfektion: Birne C. Die Fäulnis ist bis zur Fruchtachse vorgedrungen. Jede Schnittfläche ist zur Hälfte und ca. 1 cm tief faul.</p> <p>Hautinfektion: Faulfleck von ca. 4 cm Durchmesser. Aus demselben wächst dichtes grüngelbes Mycel, an dem wir umsonst nach Sporen suchten. Schnittflächeninfektion: Birne C. Die Fäulnis hat die ganze Schnittfläche zwischen Fruchtachse und Epidermis auf der ganzen Strecke und ca. $1\frac{1}{2}$ cm tief ergriffen. Um die Infektionsstelle herum wächst rotes und grüngelbes Mycel.</p>	<p>Hautinfektion: Faulfleck von ca. 5 cm Durchmesser. Die faule Birne schmeckt nicht bitter.</p> <p>Hautinfektion: Faulfleck von ca. $5\frac{1}{2}$ cm Durchmesser; auf demselben wächst eine ca. $\frac{1}{2}$ cm hohe, grüngelbe und rote Myceldecke. Die faule Birne schmeckt nicht bitter.</p>

wollten. Die Kultur dieses Pilzes in Nährgelatine ergab jedoch bald, daß wir es mit *Cephalothecium roseum* zu tun hatten. Wir möchten auf diesen Fall, wo *Cephalothecium roseum* als Fäulnispilz auftritt, hier besonders aufmerksam machen, da wiederholt die Pathogenität dieses Pilzes in Zweifel gezogen wurde,

so von Zschokke¹⁾ und Behrens²⁾, während Aderhold³⁾ einen Fall erwähnt, wo *Cephalothecium roseum* bei einer Birne von *Fusicladium*-Flecken aus die sogenannte Schalenfäule erzeugte. In neuerer Zeit hat sodann H. J. Eustace⁴⁾ *Cephalothecium roseum* als Fäulnispilz auf Äpfeln beobachtet und durch Infektionsversuche die Ansichten von Zschokke und Behrens widerlegt.

Wir haben eingangs unserer Arbeit mitgeteilt, daß die beschriebene Fäulniserscheinung und der sie verursachende Pilz bisher unbekannt geblieben, vielmehr noch nicht studiert worden seien. Besitzern von Danziger Kant-Apfelbäumen ist die Kernhausfäule bei dieser Apfelsorte eine bekannte Erscheinung; in der Literatur hingegen finden wir darüber keine Angaben. In seiner wiederholt zitierten Abhandlung spricht Zschokke⁵⁾ u. a. auch von Äpfeln, bei denen die Umgebung des Kernhauses aus stippenartig vertrocknetem Fruchtfleisch bestehe, während gegen die Peripherie hin die Frucht gesund sei. Das vertrocknete Gewebe soll einen intensiven Bittergeschmack besitzen, von Mycel durchzogen und durch Pilze abgetötet worden sein, die durch die Kelchröhre ins Innere der Frucht drangen. Wir vermuten, daß in solchen Fällen *Fusarium* im Spiel war. Auf einem faulenden Apfel hat sodann Jacky⁶⁾ *Fusarium apiogenum* Sacc. (Syn. *F. pirinum* Schw.) konstatiert. Der genannte Autor schreibt über diesen Fall folgendes: „Die Fäulnis war vom Fruchtsiel ausgegangen. Dieser, sowie die daran grenzenden Partien der Frucht waren von zart rosafarbenen Schimmelpolstern bedeckt. Das Fruchtgewebe ist an der befallenen Stelle von Mycel vollständig durchwuchert. Die erst weißen, dann karminrot werdenden Sporenlager entstehen direkt unter der Epidermis, dieselbe durchbrechend. Sie sind polsterförmig, ca. $\frac{1}{2}$ mm breit und nicht ganz so hoch und bilden an ihrer Oberfläche zahlreiche, zarte stäbchenförmige, gerade bis leicht gekrümmte, farblose Sporen, die 0–5-, meist 3mal septiert sind. Maße: $14\text{--}27\ \mu \times 2\text{--}4\ \mu$, Mittel $22 \times 3\ \mu$. Der Pilz scheint nur ein fakultativer Fäulniserreger zu sein. Die vom Stiel aus sich konzentrisch weiter entwickelnde Fäulnis schritt äußerst langsam fort. Nach ca. 2 bis 3 Wochen stellte der Pilz sein Wachstum ein; die Hyphen und Sporen waren in Desorganisation begriffen, und die Sporenlager nahmen ein gelbliches glänzendes Aussehen an. Bei Uebertragungen auf gesunde Äpfel bildeten sich in einigen Fällen kleine Mycelräschen, die aber bald von *Penicillium* überwuchert wurden und eingingen.“ Nach unserer Beschreibung des Pilzes, speziell der Sporen, ist es ausgeschlossen, daß hier unser *Fusarium* vor-

1) l. c. p. 174.

2) Behrens, Beiträge zur Kenntnis der Obstfäulnis. (Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskrankh. Abt. II. 1898.)

3) Aderhold, Arbeiten der botanischen Abteilung der Versuchsstation des Kgl. pomolog. Instituts Proskau. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. 1899.)

4) Eustace, H. J., In „New York Agricultural Experiment Station“. Geneva, N. Y. Bull. No. 227. Dec. 1902.

5) l. c. p. 195.

6) Jacky, Beitrag zur Pilzflora Proskaus. S.-A.

liegt. Auffallend ist, daß Jacky das von ihm beobachtete *Fusarium* mit 14—27 μ langen Sporen für *Fusarium apiogenum* Sacc. hält, während nach der Literatur *Fusarium apiogenum* Sacc. „ungemein kleine“ Sporen besitzen soll.

Nach Saccardos „Sylloge Fungorum“ kommen 3 verschiedene *Fusarium*-Arten auf *Pirus Malus* vor: *Fusarium rhizogenum* (Pound. et Clem.), *Fus. Mali* (Allesch.) und *Fus. arcuatum* (B. et C. North Americ. Fung. No. 614). Bei der ersten Species stimmen die Größenverhältnisse der Sporen gar nicht überein mit denjenigen des Apfelfusariums. Bei *Fusarium arcuatum* sind dieselben gar nicht angegeben, so daß wir mit der Diagnose in Saccardos Sylloge nicht viel anfangen können. Bleibt noch *Fusarium Mali* (Allesch.). Saccardo¹⁾ schreibt darüber folgendes: Hab. in ramulis exsiccatis Piri Mali, München Bavariae. Habitus praecedentis; conidia fusioidea, curvata v. vermicularia, saepius 3-septata, leniter constricta, obtusula, 30—45:3—4, hyalina. Nach dieser Beschreibung schließt die Beschaffenheit der Sporen eine Identität zwischen diesem *Fusarium* und unserem Fäulnispilz aus. Auf faulenden Birnen sind sodann nach *Fusarium heteronemeum* Berk. et Br. und *Fusisporium pyrinum* Fr. gefunden worden. Bei der ersten Art sind die Sporen nur einmal septiert; bei der letzteren fehlen genaue Angaben über die Größe der Sporen. Die Zahl der *Fusarium*-Species ist groß. Man kann fast sagen: So viele Wirtspflanzen mit Fusarien gefunden worden sind, so viele *Fusarium*-Arten sind aufgestellt worden. Man hat es bis jetzt unterlassen, durch Infektionsversuche die Identität zwischen einzelnen der zahlreichen Fusarien festzustellen. Es bleibt uns also nichts anderes übrig, wenn wir nicht vorher durch langwierige zeitraubende Versuche eine allfällige Identität zwischen unserem Apfelfusarium und einem der zahlreichen beschriebenen Fusarien beweisen können, als eine neue Species aufzustellen, für die wir den Namen *Fusarium putrefaciens* vorschlagen.

Tafelerklärung.

Tafel I.

Fig. 1. Danziger Kant-Apfel, vom Kernhaus aus faulend. *F* Faulstelle, die dunkel schraffiert ist. 1/2.

Fig. 2. Danziger Kant-Apfel aus der feuchten Kammer. Auf der Oberhaut ist das aus den Lenticellen wachsende Mycel sichtbar. 3/4.

Fig. 3. Pilzfaden mit kolbenförmigen Anschwellungen der Zellen. 500/1.

Fig. 4. Rotgefärbter, in fettiger Degeneration begriffener Faden des Luftmycels aus dem Samengehäuse des Danziger Kant-Apfels. 1000/1.

Fig. 5. Lufthyphen von der Oberfläche des Danziger Kant-Apfels. 400/1.

Fig. 6. Zu einem Bündel verwachsene Hyphen von der Oberfläche des Danziger Kant-Apfels. 500/1.

Fig. 7 und 8. Sporenstände des Luftmycels in einer feuchten Glaskammer. 500/1.

Fig. 9. Sporenstand in der Gelatine. 450/1.

Tafel II.

Fig. 10. Sporenstand am Luftmycel auf Gelatine. 500/1.

Fig. 11. Orangefarbenes Sporodochium auf Gelatine. 300/1.

1) Saccardo, l. c. Vol. XI. p. 650.

- Fig. 12. Sporenstand aus einem Sporodochium. 500/1.
 Fig. 13—19. Sporen von *Fusarium putrefaciens*, zum Teil auf Gelatine, zum Teil auf dem natürlichen Substrat gewachsen. 500/1.
 Fig. 20—27. Keimende Sporen. 500/1.
 Fig. 28. Anastomosen keimender Sporen in Gelatine. 500/1.
 Fig. 29. Anastomose zwischen Spore und Mycelfaden in Gelatine. 500/1.
 Fig. 30. Anastomosen zwischen verschiedenen Sporen? oder Sporenstand aus einer Gelatinekultur. 500/1.
 Fig. 31. Danziger Kant-Apfel, bei dem das Samengehäuse und dessen Umgebung durch *Cephalothecium roseum* in Fäulnis übergegangen ist. (Was punktiert ist, ist faul.) 3/4.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis der Umbelliferen bewohnenden Puccinien.

Von **Franc. Ottavio Semadeni**, Poschiavo-Graubünden.

Mit 5 Figuren.

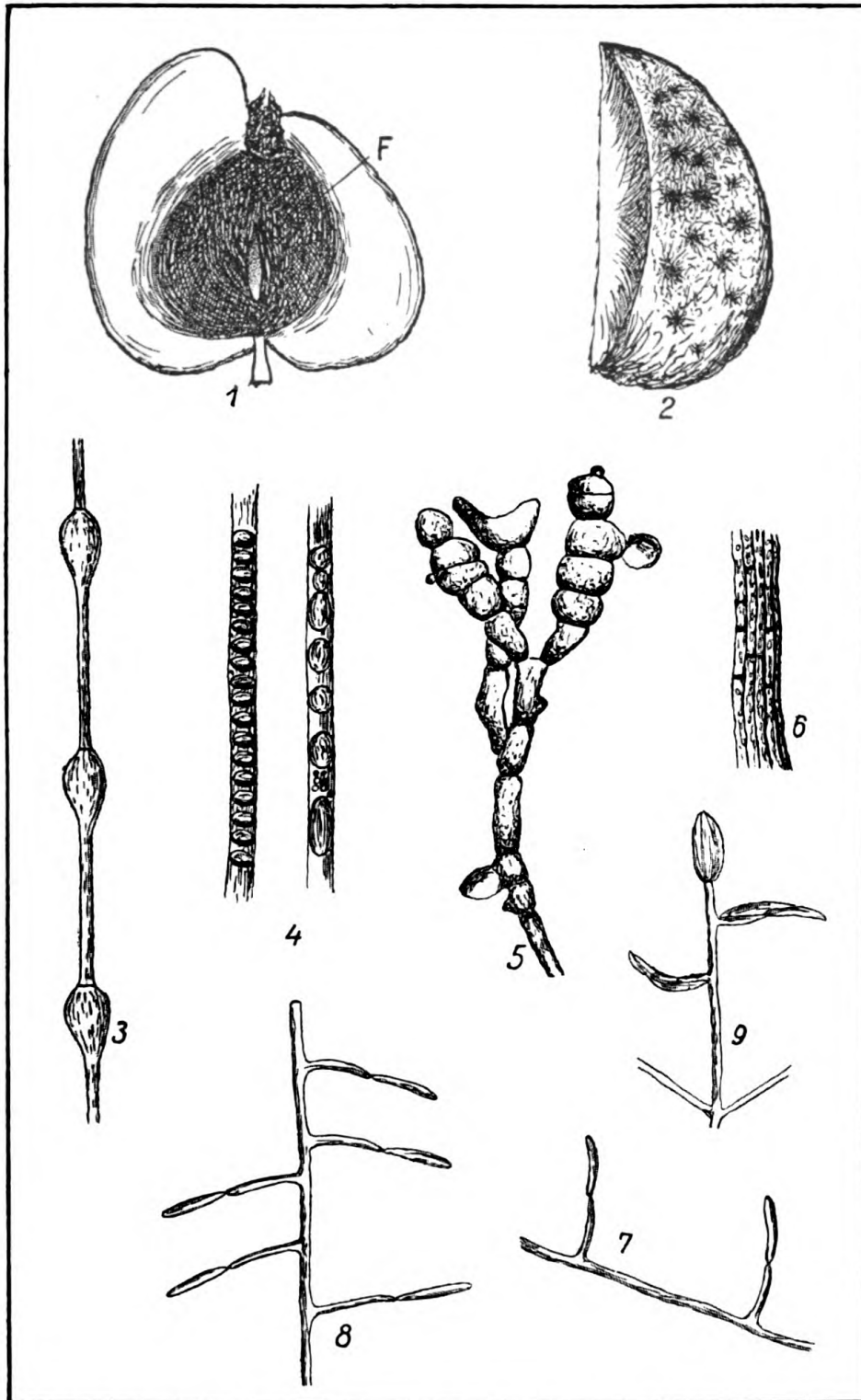
(Fortsetzung.)

Zu diesem Versuche sei bemerkt, daß *Anthriscus silvestris* am 14. Juli an jener im Versuch I zitierten Stelle ausgegraben wurde. Weil äußerlich pilzfrei, glaubte ich ohne weiteres das Exemplar zu meinem Versuche verwenden zu können, beging aber den Fehler, kein zweites Exemplar als Kontrollpflanze mitzunehmen und aufzubewahren.

Am 2. August wurden die ersten Uredolager in spärlicher Zahl an Blättern von allen 6 *Chaerophyllum*-Exemplaren bemerkt. Bei *Anthriscus silvestris* (X 7) fanden sich 7 Blätter als mit zahlreichen, schon älteren Uredolagern befallen vor. *Pimpinella magna* war pilzfrei geblieben. Am 12. August ließen die *Chaerophyllum*-Exemplare an den meisten Blättern eine gleichmäßige Infektion erkennen. Bei *Anthriscus silvestris* konnte hingegen konstatiert werden, daß dieselbe sich auf die übrigen Blätter nicht erstreckt, und die Zahl der am 2. August beobachteten Uredolager sich nicht wesentlich verändert hatte. Dies scheint beweisen zu wollen, daß *Anthriscus silvestris* schon vor dem 18. Juli den Keim einer Infektion in sich trug; denn sonst wäre es ja nicht möglich gewesen, schon am 2. August so stark infiziert zu sein. Woher der Keim zu dieser Infektion kommt, können wir auch vermuten, nämlich aus der im Freien lebenden Puccinia, in derer Nähe *Anthriscus* wuchs. Mit anderen Worten, die auf *Anthriscus silvestris* (X 7) beobachteten Uredolager stammen von einer Fremdinfection her.

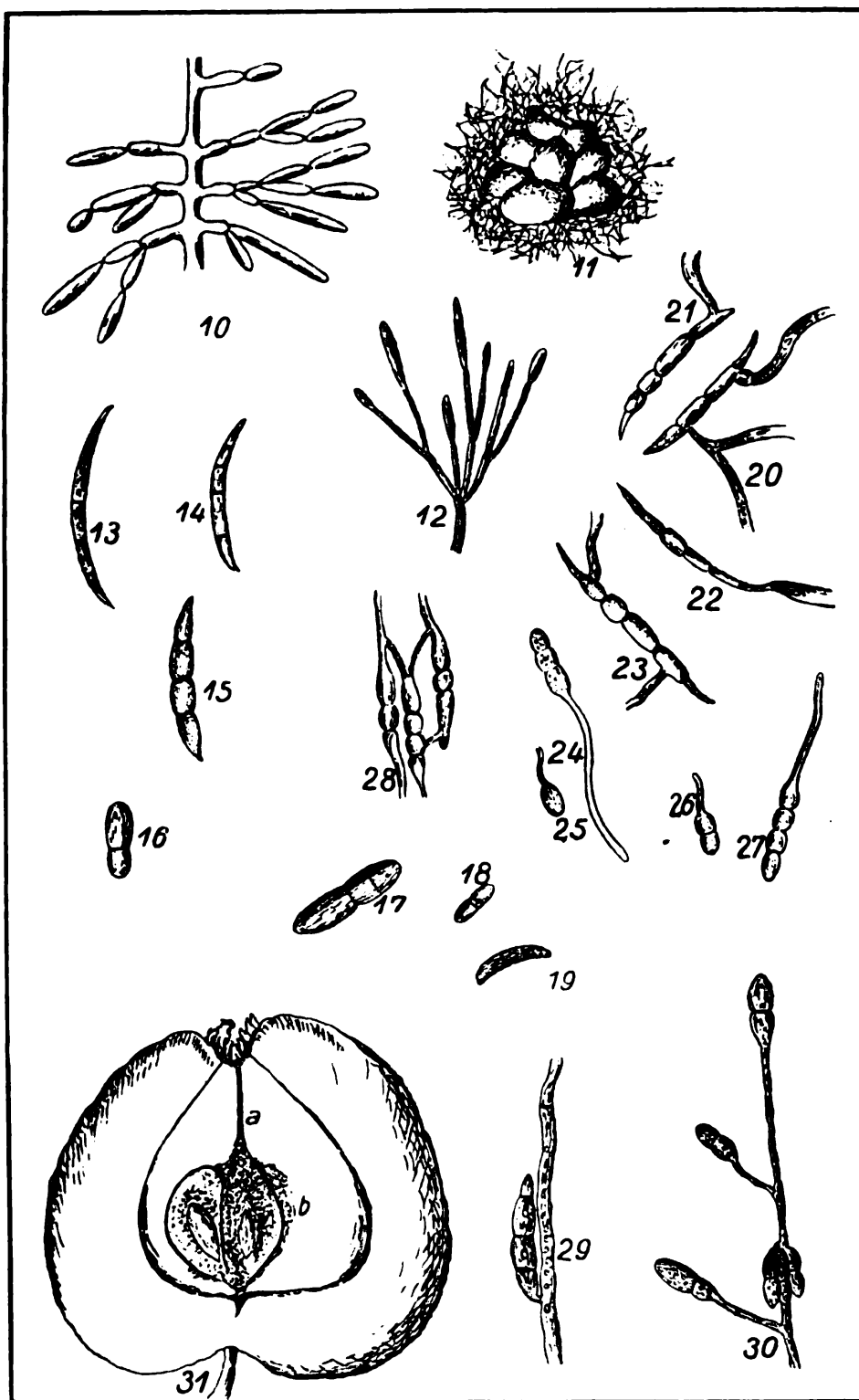
Es sei noch bemerkt, daß *Pimpinella magna* während der ganzen Versuchszeit pilzfrei blieb, und daß an *Chaerophyllum aureum* Teleutosporen erst am 23. Oktober, nachdem der Versuch längere Zeit hindurch unbeobachtet blieb, bemerkt werden konnten.

Aus diesem Versuch geht neu hervor, daß die Puccinia auf *Chaerophyllum aureum* auch auf *Pimpinella magna* nicht zu leben scheint.



Nach der Natur gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.



Nach der Natur gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Fassen wir nun die Resultate der Versuchsreihen IX und X zusammen, so ergibt sich, daß *Puccinia Chaerophylli* Purt., von *Chaerophyllum aureum* stammend, *Anthriscus silvestris* nicht befällt und *Pimpinella magna*, *Heraacleum Spondylicum* und *Meum Mutellina* nicht zu infizieren scheint.

Im Jahre 1903 wurden die Versuche mit *Puccinia* auf *Chaerophyllum aureum* wieder aufgenommen, um zu entscheiden, ob sie auf anderen *Chaerophyllum*-Arten vorkomme oder nicht.

XI. Infektionsversuch mit Teleutosporen von *Puccinia Chaerophylli* Purt., von *Chaerophyllum aureum* stammend.

Im Herbst 1902 sammelte ich auf *Chaerophyllum aureum* bei Muri (Kt. Bern) Teleutosporen von der *Puccinia Chaerophylli* Purt. Damit leitete ich am 6. Mai 1903 einen Infektionsversuch mit nachstehenden Pflanzen ein:

- | | | | |
|-------|--|---|---|
| XI 1. | <i>Chaerophyllum aureum</i> | { | im Herbst 1902 bei Bern ausgegraben
und eingetopft.
gezogen 1903 aus Samen v. d. Schweiz.
Samenuntersuchungsstation in Zürich. |
| XI 2. | " | | |
| XI 3. | " <i>temulum</i> | | |
| XI 4. | " | | |
| XI 5. | <i>Anthriscus silvestris</i> , im Herbst 1902 b. Bern ausgegraben u. eingetopft. | | |
| XI 6. | <i>Myrrhis odorata</i> | { | gezogen aus Samen von Bern. |
| XI 7. | " " | | |

Am 22. Mai konnten an allen Blättern von XI 1 und XI 2 gelblich verfärbte Stellen, sowie gut entwickelte Pykniden konstatiert werden, denen später, am 29. Mai, die ersten Aecidien folgten. Die übrigen Versuchspflanzen (XI 3—XI 7) stellten sich in beiden Kontrollen als pilzfrei heraus. Als solche blieben sie auch während der übrigen Versuchszeit. Uredo- wurden erst am 7. Juli, Teleutosporen hingegen am 13. August bemerkt. Letztere ließen sich bei mikroskopischer Untersuchung als identisch mit den Teleutosporen der *Puc. Chaerophylli* Purt. feststellen. Versuch XI stimmt also mit den Angaben der Autoren überein, nach welchen die *Puccinia*, von *Chaerophyllum aureum* stammend, eine Auteuform ist. Er bestätigt weiter die Resultate der Versuche IX und X und scheint neu beweisen zu wollen, daß die Form auf *Chaerophyllum temulum* nicht in den Entwicklungskreis dieser *Puccinia* fällt.

XII. Infektionsversuch mit Aecidiosporen von *Puccinia Chaerophylli* Purt., von *Chaerophyllum aureum* stammend.

Ein Teil der bei XI 1 und XI 2 erzielten Uredosporen wurde am 4. Juli auf folgende Versuchspflanzen aufgetragen:

- | | | | |
|--------|-----------------------------|---|--|
| XII 1. | <i>Chaerophyllum aureum</i> | { | im Herbst 1902 bei Bern ausgegraben
und eingetopft. |
| XII 2. | " " | | |
- diente schon bei Versuch XI.

22*

- | | | |
|---------|--|--|
| XII 3. | <i>Chaerophyllum temulum</i> | } gezogen aus Samen von der gleichen Quelle wie bei XI. |
| XII 4. | " | |
| XII 5. | " | } gezogen aus Samen von Paris. |
| XII 6. | " | |
| XII 7. | " | } im Herbst 1902 bei Poschiavo (Kt. Graubünden) ausgegrb. u. eingetopft. |
| XII 8. | <i>Anthriscus silvestris</i> , im Herbst 1902 b. Bern ausgegrb. u. eingetopft. | |
| XII 9. | <i>Myrrhis odorata</i> | } gleiche Herkunft wie bei XI. |
| XII 10. | " | |
| XII 11. | <i>Pimpinella magna</i> , im Herbst 1902 bei Bern ausgegrb. u. eingetopft. | |
| XII 12. | <i>Athamantha cretensis</i> , gezogen aus Samen v. Berner bot. Garten. | |

Zu dieser Versuchsreihe sei bemerkt, daß vor Einleitung des Versuches an XII 2, welches ja von Versuch XI stammte, sorgfältig sämtliche infizierten Blätter entfernt und nur die pilzfreien, die jüngsten, übrig gelassen wurden.

Am 20. Juni wurde der Versuch zum ersten Male kontrolliert. XII 1 zeigte eine gleichmäßige Uredoinfektion. An XII 2—XII 12 war von einer solchen keine Spur zu erblicken. Erst am 29. Juni traten an XII 2 vereinzelte junge Uredolager auf, während an den übrigen Versuchspflanzen das Ergebnis vom 20. Juni sich nicht verändert hatte. Die letzte Kontrolle (13. August) ergab an XII 1 und XII 2 Teleutosporen vom Typus der *Puccinia Chaerophylli* Purt. Einiger Erklärung bedarf das Verhalten von XII 2 in diesem Versuche.

Wie oben angegeben, ging XII 2 bei der ersten Kontrolle als pilzfrei aus. Eine Infektion, und zwar nur eine schwache, ließ sich bei ihm erst bei der zweiten Durchsicht konstatieren. Der negative Erfolg vom 20. Juni läßt sich aus der Tatsache erklären, daß XII 2 zur Zeit der Versuchseinrichtung nur junge Blätter trug, die für das Zustandekommen einer Infektion nicht die geeignete Beschaffenheit besaßen. Die am 29. beobachteten Uredolager rühren wahrscheinlich von einer Infektion der schon am 20. bei XII 1 vorhanden gewesenen Sporen her. Wir hätten es also in diesem Falle mit einer Autinfektion, resp. mit einer sekundären Infektion zu tun.

Das Resultat dieses Versuches darf als eine Bestätigung des vorigen angesehen werden. Neues lehrt uns der Versuch insofern, als er zeigt, daß die Form auf *Chaerophyllum aureum*, *Athamantha cretensis*, *Myrrhis odorata*, sowie *Chaerophyllum aromaticum* und *hirsutum* nicht zu befallen scheint.

Einen ähnlichen Erfolg wie XII erzielte auch die Versuchsreihe XIII.

XIII. Infektionsversuch mit Uredosporen von *Puccinia Chaerophylli* Purt., von *Chaerophyllum aureum* stammend.

Am 7. Juli wurde mit im Versuch XII gewonnenen Uredosporen ein Versuch mit nachstehenden Pflanzen vorgenommen:

- | | | |
|---------|-----------------------------|--|
| XIII 1. | <i>Chaerophyllum aureum</i> | } im Herbst 1902 b. Bern ausgegraben und eingetopft. |
| XIII 2. | " | |
| XIII 3. | " | } gezogen aus Samen von Paris. |
| XIII 4. | " | |

XIII 5.	<i>Chaerophyllum</i>	<i>temulum</i>	} von gleicher Herkunft wie in XI.
XIII 6.	"	"	
XIII 7.	"	<i>Villarsii</i>	} von gleicher Herkunft wie 5 u. 6.
XIII 8.	"	"	
XIII 9.	"	<i>hirsutum</i>	} im Herbst 1902 bei Poschiavo (Kt. Graubünden) ausgegr. u. eingetopft.

Eine am 28. Juli vorgenommene Durchsicht ergab folgendes Ergebnis:

XIII 1 Sämtliche Blätter gleichmäßige Uredoinfektion aufweisend.

XIII 2 Das gleiche wie bei XIII 1.

XIII 3—XIII 9 Pflanzen pilzfrei.

Später vorgenommene Untersuchungen ergaben das gleiche Resultat.

Teleutosporen vom Typus der *Puccinia Chaerophylli* Purt. wurden erst am 13. August beobachtet.

Das Ergebnis dieses Versuches stimmt mit demjenigen des Versuches XII überein. Aus beiden ergibt sich, daß *Puccinia Chaerophylli* Purt., von *Chaerophyllum aureum* stammend, nicht identisch sein kann mit den Formen auf *Chaerophyllum temulum*, *hirsutum*, *aromaticum*, und mit denjenigen auf *Anthriscus silvestris*, *Myrrhis odorata* und *Pimpinella magna*. Mit anderen Worten, *Puccinia Chaerophylli* Purt. auf *Chaerophyllum aureum* ist als eine besondere Form aufzufassen.

An dieser Stelle sei bemerkt, daß die zu den Versuchen V bis XIII aufbewahrten Kontrollpflanzen während der ganzen Versuchsdauer pilzfrei blieben. Ueberblicken wir nun die Ergebnisse sämtlicher mit *Puccinia Chaerophylli* Purt. ausgeführten Experimente, so gelangen wir zu folgendem Hauptresultate:

1) Die auf *Anthriscus silvestris* lebende *Puccinia* befällt *Anthriscus silvestris*, *Anthriscus cerefolium* und dessen Varietät *trichospermum*, sowie *Myrrhis odorata*. Sie ist nicht identisch mit den Formen auf *Chaerophyllum*-Arten, mit der *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart., und scheint es auch nicht zu sein mit der *Puccinia Heraklei* Grew. und mit der *Puccinia athamantina* Sydow. 2) Die *Puccinia*, von *Chaerophyllum aureum* stammend, ist als besondere Form aufzufassen. Dieses Resultat stimmt unter anderem überein mit den Ergebnissen der Versuche mit *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart., insofern als aus ihm die Nichtidentität der Straussschen mit der Purtonschen *Puccinia* hervorgeht. Es rechtfertigt somit die Trennung der auf *Anthriscus silvestris* und *Chaerophyllum aureum* lebenden Puccinien, wie sie Lindroth vorgenommen hat, von den übrigen nach früheren Autoren ebenfalls zu *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart. gerechneten Formen. Es zeigt aber, daß die Spezialisierung weiterschreitet, daß die *Puccinia* auf *Anthriscus silvestris* zu trennen ist von derjenigen auf *Chaero-*

phyllum aureum. Mit anderen Worten, wir müssen *Puccinia Chaerophylli* Purt. als eine Sammelspecies auffassen, der unter anderem zwei voneinander biologisch verschiedene Formen angehören, nämlich die Form auf *Anthriscus silvestris* und diejenige auf *Chaerophyllum aureum*. Erstere befällt nach Versuchen V—VIII *Anthriscus silvestris*, *A. cerefolium*, dessen Varietät *trichospermum* und *Myrrhis odorata*, letztere ist nach IX—XIII auf ihre Nährpflanze spezialisiert. Ob nun die im Freien auf *Anthriscus cerefolium* etc. lebenden Puccinien wirklich identisch sind mit der ersten, das kann nur durch Kulturversuche entschieden werden.

Gestützt auf morphologische Untersuchungen muß ich die Formen auf *Anthriscus silvestris* und auf *Chaerophyllum aureum* als biologische Arten der *Puccinia Chaerophylli* Purt. auffassen.

Späteren eventuell in dieser Richtung noch auszuführenden Versuchen fällt die Aufgabe zu, das, was oben an den zwei genannten Formen ausgeführt wurde, auch an den übrigen zu *Puccinia Chaerophylli* Purt. gehörenden Formen vorzunehmen.

(Siehe Tabelle S. 343.)

3. *Puccinia athamanthina* Sydow.

Diese *Puccinia* wurde ebenfalls von den früheren Autoren zu *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart. gerechnet. Lindroth¹⁾ trennte sie von letzterer, gestützt unter anderem auf die Dicke und Farbe ihrer Teleutosporenmembran. Experimente sind auch hier in der Literatur nirgends angegeben.

Die obigen Versuche hatten uns gezeigt, daß *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart. und *Puccinia Chaerophylli* Purt. auf *Athamanta* nicht übergehen. Zur definitiven Bestätigung der Nichtidentität waren umgekehrte Versuche auszuführen.

XIV. Infektionsversuch mit *Aecidio-* und *Uredosporen* von *Puccinia athamanthina* Sydow, von *Athamanta cretensis* stammend.

Am 9. August 1903 sammelte Prof. Ed. Fischer an einer Geröllhalde im Wild-Grimmi im Diemtigenthal (Berner Oberland) auf *Athamanta cretensis* *Aecidio-* und *Uredosporen* von der *Puccinia athamanthina* Sydow. Mit genanntem Material wurde am 10. August ein Infektionsversuch mit folgenden Pflanzen vorgenommen:

XIV	1. <i>Athamanta cretensis</i>	} dienten beide in letztjährigen Kulturversuchen.
XIV	2. " "	
XIV	3. " "	} gezogen 1903 aus Samen von Genf.
XIV	4. " Matthioli	
XIV	5. " "	
		} gezogen 1903 aus Samen von Kew.

1) Lindroth, „Umbelliferen-Uredineen“. (Acta Societatis pro F. et. FL Fennica, Bd. 22, No. 1, p. 24—25.)

Tabelle zu den Infektionsversuchen V—XIII.

Versuchspflanzen	Infektionsmaterial und Versuchsnummern									
	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	
	Uredosp. v. Anthr. silv.	Teleutosp. v. Anthr. silv.	Aecidiosp. v. Anthr. silv.	Uredosp. v. Anthr. silv.	Uredosp. v. Ch. aureum	Uredosp. v. Ch. aureum	Teleutosp. v. Ch. aureum	Aecidiosp. v. Ch. aureum	Uredosp. v. Ch. aureum	
<i>Anthriscus silvestris</i>	+ ¹⁾	+	+	+	—	(+) ⁹⁾	—	—	—	
„ <i>cerefolium</i>	—	— ²⁾	+	+	—	—	—	—	—	
„ „ v. trich.	—	— ³⁾	+	+	—	—	—	—	—	
<i>Chaeroph. aureum</i>	—	—	—	—	+ ⁵⁾	+	+	+	+	
„ <i>aromaticum</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
„ <i>hirsutum</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
„ <i>Villarsii</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
„ <i>temulum</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
<i>Myrrhis odorata</i>	—	+ ⁴⁾	+	+	—	—	—	—	—	
<i>Daucus Carota</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
<i>Heracl. Spond.</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
<i>Athamantha cretensis</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
<i>Pimpinella magna</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
„ <i>saxifraga</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
<i>Meum Mutell.</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
<i>Bupleurum falc.</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
<i>Sanicula europ.</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
<i>Con. maculatum</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

Erklärung der Zeichen: + = positiver Erfolg; — = negativer Erfolg;
 (+) = „ „ a. Fremdinf. zurückführbar.

- XIV 6. *Pimpinella magna* } im Herbst 1902 bei Bern ausgegraben und ein-
 XIV 7. „ „ } getopft.
 XIV 8. *Anthriscus silvestris*, im Sommer 1903 b. Bern ausgegrb. u. eingetopft.
 XIV 9. *Chaerophyllum aureum* } gezogen aus Samen von der Schw. Samen-
 „ „ „ } untersuchungsanstalt in Zürich 1903.
 XIV 10. „ „ „ i. Herbst 1902 b. Bern ausgegrb. u. eingetopft
 XIV 11. „ „ „ } im Frühling 1903 aus Samen v. d. Schw.
 „ „ „ } Samenuntersuchungsanstalt in Zürich gez.
 XIV 12. *Myrrhis odorata*, gezogen aus Samen von Genf.
 XIV 13. *Heraclium Spondylicum* } im Sommer 1903 bei Bern ausgegraben
 XIV 14. „ „ „ } und eingetopft.

Am 28. August gab die erste Kontrolle folgendes Resultat:

XIV 1 An mehreren Fiedern ober- und unterseits zahlreiche Uredolager.

XIV 2 Siehe 1.

XIV 3 Siehe 1.

XIV 4 An einigen Fiedern ober- und unterseits mehrere Uredolager.

XIV 5 An einer Fieder unterseits ein Uredolager.

1) Alle Versuchspflanzen stark befallen.

2) Versuchspflanzen aus ganz jungen Sämlingen bestehend.

3) Versuchspflanzen aus ganz jungen Sämlingen bestehend.

4) Versuchspflanzen aus ganz jungen Sämlingen bestehend.

5) Alle Versuchspflanzen befallen.

6) 1 Versuchspflanze an 2 Blättern befallen.

XIV 6—XIV 14 Pflanzen pilzfrei.

3 Tage später konnte nun folgendes konstatiert werden:

XIV 1 An den meisten Fiedern und an deren Stielen zahlreiche Uredo- und Teleutosporenlager.

XIV 2 Siehe 1.

XIV 3 Siehe 1.

XIV 4 An mehreren Fiedern ober- und unterseits Uredo- und Teleutosporenlager.

XIV 5 An einigen Fiedern ober- und unterseits Uredo- und Teleutosporenlager.

XIV 6—XIV 14 Pflanzen pilzfrei.

Mikroskopische Beobachtungen stellten die Zusammengehörigkeit der im Versuche XIV aufgetretenen Teleutosporen mit denjenigen der *Puccinia athamanthina* Sydow fest.

Der geringe Erfolg bei XIV 5 rührt wahrscheinlich davon her, daß die Pflanze zur Zeit der Versuchseinrichtung nur kümmerlich entwickelte Blätter trug, die für ein erfolgreiches Gedeihen des Pilzes nicht das Nötige liefern konnten. Das verhältnismäßig frühe Auftreten der Teleutosporen in diesem Versuche hängt mit dem alpinen Vorkommen dieser *Puccinia* zusammen. Hier sei noch bemerkt, daß die Kontrollpflanzen zu diesem Versuche während der ganzen Versuchsdauer pilzfrei blieben. Aus dem Versuch ergibt sich, daß *Puccinia athamanthina* Sydow, von *Athamantha cretensis* stammend, eine *Auteupuccinia* ist, was die diesbezüglichen Angaben der Autoren bestätigt. Aus ihm geht ferner hervor, daß sie *Athamantha cretensis* und *Matthioli* befällt, und daß sie nicht identisch zu sein scheint mit *Puccinia Pimpinellae* (Strauss) Mart., *Puccinia Heraklei* Grev. und mit *Puccinia Chaerophylli* Purt. Dies Ergebnis läßt uns unter anderem vermuten, daß die auf *Athamantha cretensis* und *Matthioli* lebenden Puccinien miteinander identisch sind. Positives kann hingegen in dieser Sache nur nach erfolgten Infektionsversuchen mit der *Puccinia*, von *Ath. Matthioli* stammend, ausgesagt werden.

Tabelle zu Infektionsversuch XIV.

Versuchspflanzen	Infektionsmaterial u. Versuchsnummer
	XIV
	Aecidio- und Uredosporen von <i>Ath. cretensis</i> .
<i>Athamantha cretensis</i>	+
„ <i>Matthioli</i>	+
<i>Pimpinella magna</i>	—
<i>Heracleum Spondylicum</i>	—
<i>Anthriscus silvestris</i>	—
<i>Chaerophyllum aureum</i>	—
„ <i>temulum</i>	—
<i>Myrrhis odorata</i>	—

Erklärung der Zeichen: + = positiver Erfolg; — = negativer Erfolg.

II. Psorodermæ.

4. *Puccinia Oreoselini* (Strauss) Fuck.

Während frühere Autoren als Nährpflanzen der *Puccinia Oreoselini* (Strauss) Fuck. mehrere *Peucedanum*-Arten hinstellten, beschreibt Lindroth¹⁾ eine solche einzig und allein auf *Peucedanum Oreoselinum*.

Es schien mir daher nicht ohne Interesse zu sein, als Herr Th. Wurth mir Uredosporen von dieser *Puccinia*, die er in Chur sammelte, zuschickte, damit einen Versuch einzuleiten, um näheres über den Kreis ihrer Nährpflanzen zu erfahren.

XV. Infektionsversuch mit Uredosporen von *Puccinia Oreoselini* (Strauss) Fuck., von *Peucedanum Oreoselinum* stammend.

Das vorher genannte Material wurde am 28. Juli 1903 zu einem Infektionsversuch mit nachstehenden Pflanzen gebraucht:

XV 1.	<i>Peucedanum Oreoselinum</i>	} gezogen 1903 aus Samen von Turin.
XV 2.	" "	
XV 3.	" "	
XV 4.	" "	
XV 5.	" <i>Cervaria</i>	} gezogen 1903 aus Samen von Paris.
XV 6.	" <i>alsaticum</i>	
XV 7.	" <i>longifolium</i>	
XV 8.	" "	
XV 9.	" <i>ruthenicum</i>	} gezogen 1903 aus Samen von Gießen.
XV 10.	" <i>austriacum</i>	
XV 11.	" <i>raiblense</i>	
XV 12.	" <i>graveolens</i>	
XV 13.	" <i>palustre</i>	} im Juli 1903 bei Blumenstein (Kt. Bern) ausgegraben und eingetopft.
XV 14.	<i>Silene pratensis</i>	
XV 15.	<i>Seseli glaucum</i>	gezogen 1903 aus Samen von Paris.
XV 16.	<i>Seseli montanum</i>	aus dem Berner botanischen Garten stammend.
XV 17.	" <i>cachroides</i>	gezogen 1903 aus Samen von Paris.
XV 18.	<i>Selinum Carvifolia</i>	gezogen 1903 aus Samen von Paris.

Zu diesem Versuche sei bemerkt, daß sämtliche *Peucedanum*-sämlinge am 28. Juli noch nicht völlig entwickelt waren, somit ein schwacher Erfolg von vornherein zu erwarten war.

Am 29. August ergab die erste Kontrolle folgendes Resultat:

XV 1 Mehrere Blattabschnitte an ihrer Unterseite mit *Uredo* stark infiziert.

XV 2—XV 14 Pflanzen pilzfrei.

XV 15 An einigen Blattabschnitten unterseits einige *Uredolager*.

XV 16—18 Pflanzen pilzfrei.

Am 9. September konnte folgendes konstatiert werden:

XV 1 An mehreren Blattabschnitten unterseits *Uredo*- und *Teleutosporenlager*.

XV 2 An einem Blattabschnitte 2 *Uredo*- und 2 *Teleutosporenlager*.

XV 3—XV 10 Pflanzen pilzfrei.

1) l. c. p. 57—58.

XV 11 Einige Blattabschnitte unterseits Uredo- und Teleutosporenlager aufweisend.

XV 12—XV 14 Pflanzen pilzfrei.

XV 15 An einem Blattabschnitt einige Teleutosporenlager. An 2 anderen Blattabschnitten zahlreiche Uredolager.

XV 16—XV 18 Pflanzen pilzfrei.

Die an XV 1, XV 2 und an XV 15 aufgetretenen Teleutosporen wiesen überall jene für *Puccinia Oreoselini* (Strauss) Fuck. charakteristische Skulptur der Teleutosporenmembran auf. Somit konnte also nicht an der Identität des im Versuch XV erzielten Infektionsmaterials mit der obigen *Puccinia* gezweifelt werden. Eine Durchsicht der zu dieser Versuchsreihe aufbewahrten Kontrollpflanzen ergab zwar bei *Seseli glaucum* einige Uredo- und Teleutosporen, die sich aber, als zu *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindr. gehörend und von einer Fremdinfection herrührend, herausstellten. Hier sei noch bemerkt, daß die übrigen zu diesem Versuche aufbewahrten Kontrollpflanzen während der ganzen Versuchszeit pilzfrei blieben.

Der schwache Erfolg bei XV 2 und XV 11, sowie das Ausbleiben einer Infektion bei XV 3 und XV 4 läßt sich, wie schon früher gesagt, zurückführen auf teilweise, resp. gänzliche Infektionsunfähigkeit der Blätter der betreffenden Pflanzen infolge ungenügender Entwicklung. Möglicherweise ist auch der negative Erfolg auf den übrigen *Peucedanum*-Arten in diesem Sinne zu erklären. Deshalb bedarf das negative Resultat auf XV 5—XV 10 und auf XV 12 der Bestätigung durch weitere Versuche.

Fassen wir das Ergebnis der Versuchsreihe XV in wenigen Worten zusammen, so können wir sagen, *Puccinia Oreoselini* (Strauss) Fuk., von *Peucedanum Oreoselinum* stammend, befällt auch *Peucedanum raiblense* und *Seseli glaucum*.

Weitere Infektionsversuche wurden mit dieser *Puccinia* nicht vorgenommen, da es an genügendem Infektionsmaterial fehlte. Es bleibt somit noch festzustellen, ob die übrigen *Peucedanum*-Arten in den Entwicklungskreis dieser *Puccinia* fallen oder nicht.

(Siehe Tabelle p. 347.)

III. Bullatae.

5. *P. Petroselini* (D.C.) Lindr.

Zu dieser *Puccinia* rechnet Lindroth¹⁾ die Pilze auf *Aethusa Cynapium*, *Petroselinum sativum* und auf *Anethum graveolens*, welche sich von den übrigen Bullata-Formen durch ihre kleinen, gerundeten Uredosporen gut auseinander halten lassen. Indessen ist dieser Autor nicht sicher, ob nicht *Puccinia Petroselini* (D.C.) Lindr. in der von ihm gegebenen Umgrenzung eine kollektive Art darstellt. Diese Frage

1) Lindroth, Umbelliferen-Uredineen. (Acta Societatis pro F. et Fl. Fennica. Vol. 22. No. 1. p. 84—86.)

Tabelle zu Infektionsversuch XV.

Versuchspflanze	Infektionsmaterial und Versuchsnummer	
	XV	
	Uredosporen von <i>P. oreoselinum</i>	
Peuc. oreoselinum	± ¹⁾	
„ Cervaria	—	
„ alsaticum	—	
„ longifolium	—	
„ ruthenicum	—	
„ austriacum	—	
„ raiblense	± ²⁾	
„ graveolens	—	
„ palustre	—	
Seseli glaucum	± ³⁾	
„ montanum	—	
„ cachroides	—	
Silaus pratensis	—	
Selinum Carvi-folia	—	

Erklärung der Zeichen: + = positiver Erfolg; ± = schwacher Erfolg; — = negativer Erfolg.

zu entscheiden, bezwecken nun einige von mir in den Jahren 1902 und 1903 ausgeführten Kulturversuche.

XVI. Infektionsversuch mit Uredosporen von *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindr., von *Aethusa Cynapium* stammend.

Am 27. Juli fand ich am „Schänzli“, bei Bern, auf Blättern von *Aethusa Cynapium* Uredosporen der *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindr. Damit wurde eine Aussaat vorgenommen auf:

- | | |
|---|---|
| XVI 1. <i>Aethusa Cynapium</i> | } im Juli 1902 im Berner botan. Garten ausgegraben und eingetopft. |
| XVI 2. „ „ | |
| XVI 3. „ „ | |
| XVI 4. „ „ | |
| XVI 5. „ „ | |
| XVI 6. <i>Petroselinum sativum</i> , im Berner botan. Garten kultiviert. | |
| XVI 7. <i>Conium maculatum</i> , im Berner botan. Garten kultiviert. | |
| XVI 8. <i>Peucedanum palustre</i> | } im Juli 1902 bei Blumenstein (Kt. Bern) ausgegraben und eingetopft. |
| XVI 9. <i>Apium graveolens</i> , im Berner botan. Garten kultiviert. | |
| XVI 10. <i>Pimpinella magna</i> , in der Nähe von Bern ausgegraben u. eingetopft. | |

Am 12. August wurden die Versuchspflanzen beobachtet. Eine Infektion hatte stattgefunden auf *Aethusa Cynapium* (XVI 1 bis XVI 5) und auf einigen Blättern von *Conium maculatum* (XVI 7). Auf den übrigen Versuchspflanzen hatte die Infektion einen negativen Erfolg gehabt. Eine am 28. vorgenommene

- 1) Eine Versuchspflanze ziemlich stark, eine zweite schwach und die übrigen zwei gar nicht befallen.
 2) 1 Versuchspflanze.
 3) 1 Versuchspflanze.

Durchsicht ergab das gleiche Resultat. Teleutosporen wurden am 29. August zum erstenmal beobachtet. Das Ergebnis auf *Aethusa Cynapium* war, da das Material an Hand von Objektträgerkulturen sich als keimfähig herausgestellt hatte, von vornherein zu erwarten. Die Tatsache aber, daß von den übrigen Versuchspflanzen nur *Conium maculatum* von der *Puccinia* befallen wurde, mußte auffallen. An eine Fremdinfection konnte indessen nicht gedacht werden, da die Kontrollpflanzen zu *Conium maculatum* während der ganzen Versuchsdauer pilzfrei blieben. Es gab also nur die Annahme, die *Puccinia* auf *Conium maculatum* rühre von der Infection des Versuches XVI her. Diese wurde dann auch bestätigt durch mikroskopische Untersuchungen des gesamten im Versuch XVI erzielten Sporenmaterials. Es zeigte sich nämlich, daß die Uredo- und Teleutosporen auf *Aethusa* in Größe, Form und Membranskulptur mit den betreffenden Sporenarten auf *Conium* genau übereinstimmten. Mit anderen Worten, die im Versuch XVI bei XVI 7 erfolgte Infection stammt von der *Puccinia* auf *Aethusa Cynapium* her. Hingegen konnte diese *Puccinia* nicht identifiziert werden mit der sonst bis jetzt nur auf *Conium maculatum* beobachteten und von Lagerheim zuerst beschriebenen *Puccinia Conii* (Strauss) Fuck. auf Grund ihrer abweichenden Uredosporen.

Versuch XVI spricht dafür, daß die *Puccinia*, von *Aethusa Cynapium* stammend, *Petroselinum sativum*, *Peucedanum palustre*, *Apium graveolens* und *Pimpinella magna* nicht befällt, daß sie also mit den auf diesen Umbelliferen vorkommenden *Puccinien* nicht identisch ist. Andererseits scheint aus ihm hervorzugehen, daß diese *Puccinia* auch auf *Conium* übergeht.

XVII. Infektionsversuch mit Uredosporen von *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindr., von *Aethusa Cynapium* stammend.

Im November 1902 sammelte ich in der Nähe des Berner botanischen Gartens auf *Aethusa Cynapium* Uredosporen von obiger *Puccinia*. Damit wurden am 5. November besät:

- | | | |
|---|---|--|
| XVII 1. <i>Aethusa Cynapium</i> | } | aus dem Berner botan. Garten stammend. |
| XVII 2. " | | |
| XVII 3. <i>Petroselinum sativum</i> | } | im Berner botan. Garten kultiviert. |
| XVII 4. " | | |
| XVII 5. <i>Conium maculatum</i> , im Berner botan. Garten kultiviert. | | |

Am 20. November trugen beide Exemplare von *Aethusa Cynapium* zahlreiche Uredo- und Teleutosporenlager. Auf den übrigen Versuchspflanzen hatte die Infection ein negatives Resultat erzielt. Eine anfangs Dezember vorgenommene Kontrollierung bestätigte das Ergebnis vom 20. November. In diesem Versuche wurde also *Conium* von der *Puccinia* auf *Aethusa Cynapium* nicht befallen. Dieses steht nun aber im Gegensatz mit der Erscheinung im vorangehenden Versuche, wo nämlich die gleiche *Puccinia* *Conium* an 2 Blättern infizierte. Woher nun aber das ver-

schiedene Verhalten der *Puccinia*, von *Aethusa Cynapium* stammend, gegenüber *Conium maculatum* in diesen zwei Versuchen rührt, ist mir unbekannt; denn jeder Erklärungsversuch scheitert an der Tatsache, daß in beiden Fällen das Infektionsmaterial als keimfähig und die Versuchspflanzen (*Conium*) als zu einer Uredoinfektion geeignet gefunden wurden. Berücksichtigen wir ferner die Tatsache, daß auch in den übrigen mit *Puccinia Petroselini* (Strauss) Lindr. eingeleiteten Versuchen *Conium* von ihr nicht befallen wurde, so dürfen wir annehmen, bei XVI 7 vor einem solchen Falle zu stehen, in welchem ein Pilz unter noch zur Stunde uns unbekannten Bedingungen befähigt ist, eine Nährpflanze zu befallen, die sonst in ihren Entwicklungskreis nicht fällt. Aus Versuch XVII ergibt sich also, daß die *Puccinia*, von *Aethusa Cynapium* stammend, *Petroselinum sativum* und *Conium maculatum* nicht zu befallen scheint. Beide Versuche zeigen, daß obige *Puccinia* nicht identisch sein kann mit einer solchen auf *Petroselinum sativum*.

Mit diesem Ergebnis stimmen diejenigen des Jahres 1903 überein.

XVIII. Infektionsversuch mit Teleutosporen von *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindr., von *Aethusa Cynapium* stammend.

Im November 1902 fand ich in der Nähe Berns auf *Aethusa Cynapium* Teleutosporen obiger *Puccinia*.

Diese wurden am 19. Mai 1903 aufgetragen auf:

- | | |
|--|--|
| XVIII 1. <i>Aethusa Cynapium</i> | } gezogen 1903 aus Samen v. Würzburg. |
| XVIII 2. " | |
| XVIII 3. <i>Conium maculatum</i> | } gezogen 1903 aus Samen von Darmstadt. |
| XVIII 4. " | |
| XVIII 5. <i>Petroselinum sativum</i> | } gezogen 1903 aus Samen vom Berner botan. Garten. |
| XVIII 6. " | |
| XVIII 7. <i>Anethum graveolens</i> | } gezogen 1903 aus Samen v. Karlsruhe. |
| XVIII 8. " | |
| XVIII 9. <i>Coriandrum sativum</i> | gezogen 1903 aus Samen v. Göttingen. |
| XVIII 10. <i>Seseli glaucum</i> | gezogen 1903 aus Samen von Göttingen. |
| XVIII 11. <i>Selinum Carvifolia</i> | gezogen 1903 aus Samen von Paris. |
| XVIII 12. <i>Peucedanum graveolens</i> | gezogen 1903 aus Samen von Paris. |

Am 1. Juni ergab die Durchmusterung folgendes Ergebnis: XVIII 1 (*Aethusa Cnp.*). An sämtlichen jungen Blättern oberseits Pykniden und gelblich verfärbte Stellen. XVIII 2 (*Aethusa Cnp.*): Siehe XVIII 1. XVIII 3—XVIII 8 (*Conium*, *Petroselinum* und *Anethum*) Pflanzen pilzfrei. XVIII 9 (*Coriandrum sativ.*). Der Topf enthält 4 Sämlingspflanzen. An der einen Pykniden, an 2 gelblich verfärbte Stellen, die 4. pilzfrei. XVIII 10—XVIII 12 (*Seseli*, *Selinum* und *Peucedanum*), Pflanzen pilzfrei. Am 11. Juni änderte sich das Resultat, wie folgt: XVIII 2 (*Aethusa Cnp.*): Siehe XVIII 1. XVIII 3—XVIII 7 (*Conium*, *Petroselinum* und *Anethum*), Pflanzen pilzfrei. XVIII 8 (*Anethum graveolens*). Der Topf enthält 4 Sämlingspflanzen. An der einen zahlreiche Pykniden und gelblich verfärbte

Stellen, an den 3 übrigen nur gelblich verfärbte Stellen. XVIII 9 (*Coriandrum*). 3 Sämlingspflanzen an den Blättern Pykniden, die 4. pilzfrei. XVIII 10 (*Seseli glauc.*). An einigen Blättern oberseits gelblich verfärbte Stellen. XVIII 11 und XVIII 12 (*Selinum Carvifolia* und *Peucedanum graveolens*). Pflanzen pilzfrei. Die zweite Kontrolle hatte also unter anderem bei *Coriandrum sativum* eine Vermehrung der Infektion, an einem Topf von *Anethum graveolens* ein Neuauftreten derselben und an *Seseli glaucum* Spuren einer solchen ergeben. Am 16. Juni konnten auch an *Coriandrum sativum* (XVIII 9) an allen drei infizierten Sämlingspflanzen *Uredo* konstatiert werden, während die 4. noch immer pilzfrei war. Am gleichen Tage wurde festgestellt, daß an *Anethum grav.* (XVIII 8, und an *Seseli gl.* (XVIII 10) die Pykniden, resp. die gelblich verfärbten Parteen verschwunden, auf der anderen Stelle hingegen sowie auch an *Anethum grav.* (XVIII 7) deutliche Spuren von Insektenfraß vorhanden waren. Dies läßt folgende Vermutung zu: Nach dem 11. Juni haben sich an den verfärbten Stellen von *Anethum grav.* und *Seseli gl.* (XVIII 8 und XVIII 10) junge Pykniden gebildet. Gegen den 16. hin sind nun solche auch an XVIII 7 (am 2. Exemplar von *Anethum grav.*) aufgetreten. Insekten (Kellerasseln?) haben dann wahrscheinlich des Nachts zu wiederholten Malen die betreffenden Pflanzen überfallen, um sich des Honigs, des steten Begleiters der Pykniden, zu bemächtigen. So ist nun der Fraß zu stande gekommen, somit auch die Beseitigung der Infektion, resp. deren Spuren bei *Anethum grav.* und *Seseli glaucum*.

Ich glaube daher nicht irre zu gehen, wenn ich in diesem Versuche der Infektion auch einen Erfolg auf *Seseli glaucum* und auf dem 2. Exemplar von *Anethum graveolens* zuschreibe. Später in dieser Arbeit noch zu besprechende Versuche werden klar beweisen, daß obige Pflanzen wirklich in den Entwicklungskreis der *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindr. auf *Petroselinum sativum* fallen. Schließlich sei noch bemerkt, daß Teleutosporen vom Typus der genannten *Puccinia* am 16. August auf *Aethusa* und *Coriandrum* konstatiert wurden.

Versuch XVIII bestätigt also die Angaben der Autoren, nach denen die *Puccinia*, von *Aethusa Cynapium* stammend, eine *Brachypuccinia* ist. Er zeigt ferner, daß sie *Coriandrum sativum*, *Anethum graveolens* und *Seseli glaucum*, hingegen nicht *Petroselinum sativum* und *Conium maculatum* befällt. Außerdem scheint aus ihm hervorzugehen, daß sie mit *Puccinia bullata* (Pers.) auf *Selinum Carvifolia* und *Peucedanum graveolens* nicht identisch ist.

XIX. Infektionsversuch mit Teleutosporen von *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindr., von *Aethusa Cynapium* stammend.

Mit Teleutosporen, vom gleichen Orte wie im Versuch XVIII

stammend, wurde am 30. Mai ein Infektionsversuch mit folgenden Pflanzen eingeleitet:

- | | |
|--|---|
| XIX 1. <i>Aethusa Cynapium</i> | } gezogen 1903 aus Samen von Würzburg. |
| XIX 2. " | |
| XIX 3. <i>Coriandrum sativum</i> | } gezogen 1903 aus Samen von Göttingen. |
| XIX 4. " | |
| XIX 5. <i>Conium maculatum</i> | } gezogen 1903 aus Samen von Darmstadt. |
| XIX 6. " | |
| XIX 7. <i>Petroselinum sativum</i> | } gezogen 1903 aus Samen v. Berner bot. Garten. |
| XIX 8. " | |
| XIX 9. <i>Anethum graveolens</i> | } gezogen 1903 aus Samen von Karlsruhe. |
| XIX 10. " | |
| XIX 11. <i>Seseli glaucum</i> | } gezogen 1903 aus Samen von Göttingen |
| XIX 12. " | |
| XIX 13. <i>Selinum Carvifolia</i> | gezogen 1903 aus Samen von Paris. |
| XIX 14. <i>Libanotis sibirica</i> | gezogen 1903 aus Samen von Gießen. |
| XIX 15. <i>Peucedanum alsaticum</i> | gezogen 1903 aus Samen von Gießen. |
| XIX 16. <i>Foeniculum officinale</i> | gezogen 1903 aus Samen von Turin. |
| XIX 17. <i>Archangelica officinale</i> | gezogen 1903 aus Samen von Kew. |
| XIX 18. <i>Peucedanum graveolens</i> | gezogen 1903 aus Samen von Kew. |

Vom 16. Juni ab wurden die Versuchspflanzen, um sie vor Insekten zu schützen, auf leere Töpfe gestellt, die in bis zum Rande mit Wasser gefüllten Tellern ruhten. Diese Vorsichtsmaßregel wurde übrigens bei sämtlichen nach dem 16. Juni eingeleiteten Versuchen beobachtet, deren Infektionsmaterial aus Teleutosporen bestand. Am 23. Juni fand die erste Kontrolle statt. *Aethusa Cynapium* (XIX 1 u. XIX 2) trug an den meisten Blättern Pykniden und Uredosporen. *Coriandrum sativum* (XIX 3 u. XIX 4) war verwelkt. *Conium* und *Petroselinum* (XIX 5 u. XIX 8) waren pilzfrei. *Anethum graveolens* (XIX 9 u. XIX 10) besaß an den meisten Fiedern, sowie an Blattstielen zahlreiche Pykniden. An *Seseli gl.*, *Selinum Carvif.*, *Libanotis sib.*, *Peuced. alsat.*, *Foen. off.*, *Archangel. off.* und *Peuced. graveol.* (XIX 11—XIX 18) war keine Infektion zu bemerken. Leider konnten die Versuchspflanzen erst am 18. Juli zum 2. Male beobachtet werden. Das Resultat dieser Durchsicht lautet wie folgt:

XIX 1 u. XIX 2 (*Aethusa Cynap.*): Sämtliche Blätter mit Uredo infiziert.

XIX 3—XIX 4 (*Coriandrum sativ.*): Pflanzen verwelkt.

XIX 5—XIX 8 (*Conium*, *Petrosel.*): Pflanzen pilzfrei.

XIX 9 u. XIX 10 (*Anethum graveol.*): Die meisten Blattabschnitte mit Uredo infiziert.

XIX 11—XIX 12 (*Seseli gl.*): Das gleiche wie in XIX 9 u. XIX 10.

XIX 13 (*Selinum Carvif.*): Pflanze pilzfrei.

XIX 14 (*Libanotis sib.*): Einige Blattabschnitte mit Uredo infiziert.

XIX 15—XIX 18 (*Peuced. alsat.*, *Foen. off.*, *Archang. off.* und *Peuced. graveol.*): Pflanzen pilzfrei.

Die zweite Kontrolle ergab also unter anderem eine Uredo-infektion an *Seseli glaucum* und an *Libanotis sibirica*. Dieser Befund scheint im Widerspruch zu stehen mit der Tatsache,

daß an genannten Pflanzen weder am 25. Juni noch am 18. Juli Pykniden konstatiert werden konnten. Man könnte also zweifeln, ob diese Uredosporen wirklich von der Infektion des 30. Mai stammen oder ob sie nicht einer Fremdinfection zuzuschreiben seien. Der Widerspruch fällt aber dahin, sobald wir annehmen, daß an genannten Pflanzen die Pykniden erst nach dem 25. Juni auftraten, um noch vor dem 18. Juli dem Uredo Platz zu machen. Diese Annahme würde also das vermeinte Fehlen der Pykniden ohne weiteres erklären. Glücklicherweise sind wir aber in der Lage, das Gesagte auch wirklich zu beweisen. Am 16. August wurden nämlich an *Aethusa Cynapium* (XIX 1 u. XIX 2), *Seseli glaucum* (XIX 11 u. XIX 12) und an *Libanotis sibirica* (XIX 14) Teleutosporen beobachtet, die sämtlich mit den betreffenden Sporen der *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindr. übereinstimmen. Somit ist also klar gezeigt, daß die Uredoinfection auf *Seseli* und *Libanotis* wirklich von der *Puccinia* auf *Aethusa Cynapium* stammte. Der Vollständigkeit halber sei noch bemerkt, daß die Versuchspflanzen *Petrosel. sativ.*, *Selinum Carvif.*, *Peuced. alsat.*, *Foen. off.*, *Archang. off.* und *Peuced. graveol.* auch während des Juli und August pilzfrei blieben.

Das Ergebnis des Versuches XIX bestätigt dasjenige der Versuchsreihe XVIII. Neu geht aus ihm hervor, daß die *Puccinia*, von *Aethusa Cynapium* stammend, auch *Libanotis sibirica* befällt, und daß sie ferner nicht identisch zu sein scheint mit der *Puccinia Angelicae* Sch. auf *Archangelica officinalis*.

(Fortsetzung folgt.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Freudenreich, Ed. v., Ueber die Bakterien im Kuheuter und ihre Verteilung in den verschiedenen Parteien des Melkens, p. 281.

Jensen, Orla, Studien über die flüchtigen Fettsäuren im Käse nebst Beiträgen zur Biologie der Käsefermente. (Forts.), p. 291.

Milburn, Thomas, Ueber Aenderungen der Farben bei Pilzen und Bakterien. (Schluß), p. 257.

Osterwalder, A., Ueber eine bisher un-

bekannte Art der Kernobstfäule verursacht durch *Fusarium putrefaciens* nov. spec. (Schluß), p. 330.

Semadeni, Franc. Ottavio, Beiträge zur Kenntnis der Umbelliferen bewohnenden Puccinien. (Forts.), p. 338.

Störmer, K., Ueber die Wasserröste des Flachses. (Schluß), p. 306.

Uyeda, Y., On the Tobacco Wilt Disease caused by a Bacteria, p. 327.

Wehmer, C., Ueber Kugelhefe und Gärung bei *Mucor javanicus*, p. 277.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D.C., U. S. A., Prof.
Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr.
Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W.50, Schaperstr. 2/3 I.
und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XIII. Band.

Jena, den 26. Oktober 1904.

No. 12.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hiersu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der 1. Abteilung des Centralblattes.

Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

Nachdruck verboten.

Aus der mikrobiologischen Gesellschaft zu St. Petersburg.

Sitzung vom $\frac{19. \text{ März}}{1. \text{ April}}$ 1904.

Palladin, W. J., Die Leistungen der Fermente in leben-
den und in abgetöteten Hefen.

Vortrag. teilt die Resultate mit, welche unter seiner Leitung
in den botanischen Laboratorien der St. Petersburger Universität
und der St. Petersburger höheren Kurse für Frauen von den
Herren Telesnin und Warschawsky, sowie von den Damen
Leschtsch, Grigoriowa und Gromowa ausgeführt worden
sind. Die wichtigsten Ergebnisse sind folgende:

Zweite Abt. Bd. XIII.

23

1) *S. cerevisiae*, *S. Pombe* und *S. membranaefaciens* stellen Vertreter dreier biologischer Typen von Hefen dar.

2) Der Gaswechsel des käuflichen Zymins steht in Abhängigkeit vom Nährsubstrat. Sein Koeffizient $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ schwankt auf Glykose, Fruktose, Maltose und Saccharose zwischen 60 und 78. Auf Wasser, Glycerin, Mannit und Laktose ist dieser Koeffizient bedeutend niedriger, immerhin aber höher als 1 infolge von Selbstvergärung.

3) In Acetonpräparaten von *S. cerevisiae* und *S. Pombe*, welche auf gärfähigen Flüssigkeiten gezüchtet worden sind, ist der Koeffizient $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ sehr hoch, was auf Anwesenheit von Zymase hin-

weist. Dagegen ist $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ in Acetonpräparaten aus ebendenselben Hefen, wenn sie in zur Vergärung unfähigen Flüssigkeiten gezüchtet worden sind, selbst auf Glykose geringer als 1, was auf Abwesenheit von Zymase schließen läßt.

4) Zymen scheidet in Luft und Wasserstoff gleiche Mengen von Kohlensäure aus. Die Konzentration der Lösungen ist hierbei ohne Belang.

5) In dem Zymen geht in Wasser ein starker Zerfall von Eiweiß vor sich. Saccharose hemmt den Eiweißzerfall um so stärker, je konzentrierter ihre Lösung ist.

6) Chinin und Chlorkalium wirken auf das Zymen in diametral entgegengesetzter Richtung. Das Chinin hemmt den Eiweißzerfall; infolgedessen scheidet das Zymen in Gegenwart von Chinin Kohlensäure während einer längeren Zeitdauer aus. Chlorkalium beschleunigt den Zerfall von Eiweißkörpern (mithin auch den des Zymins), so daß in Gegenwart von CaCl_2 das Zymen früher aufhört, Kohlensäure zu entwickeln, als ohne dasselbe.

Winogradsky.

Originalreferate aus bakteriologischen u. gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Aus dem Institut für Gärungsgewerbe, Berlin.

Lindner, P., Die Bedeutung der Feststellung des Infektionsquotienten gärender Flüssigkeiten unmittelbar nach der Probeentnahme. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XXI. No. 26. p. 368—369.)

Bei Einsendung von Fläschchen mit Proben gärender Flüssigkeiten behufs biologischer Analyse kann beim Transport, besonders wenn derselbe einige Tage dauert, sich das ursprüngliche Verhältnis der vorhandenen Organismen durch stärkeres Wachstum des einen oder anderen vollständig verschieben, so daß die Analyse ein falsches Bild der tatsächlich im Moment der Probenahme bestanden

habenden Verhältnisse ergibt. Um dies zu vermeiden, schlägt Verf. vor, daß gleichzeitig mit der Probenahme an Ort und Stelle die Anlage von Tröpfchenkulturen vorgenommen wird. Die Kulturen können entweder von dem Praktiker selbst am nächsten Tage mikroskopisch durchmustert werden oder an eine Untersuchungsstation eingesendet werden. Die erzielten Untersuchungsergebnisse werden immer den Tatsachen gut entsprechen, auch wenn zwischen Probenahme und Untersuchung einige Tage liegen, weil natürlich in Tröpfchen, die von Anfang an keine fremden Organismen enthielten, auch nach beliebig langer Zeit keine solchen auftreten können, so daß der Prozentsatz der infizierten Tröpfchen ein zutreffendes Bild der tatsächlichen Verhältnisse gibt. Mohr (Berlin).

Lindner, P., Der Nachweis von Bierhefe in Preßhefe mittels der biologischen Analyse und die Einführung eines bestimmten Hefentypus in die Preßhefefabrikation. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Bd. XXVII. No. 16. p. 156—157.)

Wie Verf. bereits früher nachgewiesen, ist vorhandenes oder fehlendes Melibiosegärvermögen kein sicheres Unterscheidungsmerkmal für Unter- und Oberhefe, da es typische Oberhefen mit diesem Gärvermögen gibt, während es andererseits manchen Unterhefen abgeht. Die vom Verf. vorgeschlagene Untersuchungsmethode basiert auf der Beobachtung, daß Oberhefen in der Tröpfchenkultur sparrige Sproßverbände, die Unterhefen dagegen durchgängig lockere Sproßverbände zeigen. Die Untersuchung einer Hefe auf ihre Reinheit und ihren Charakter wird nach Verf. Vorschlag, wie folgt, vorgenommen:

Die zu untersuchende Hefe wird in etwas Würze verteilt, so daß bei Anlage von Tröpfchenkulturen auf 1 Tröpfchen höchstens 2—3 Zellen kommen, damit genügend Spielraum zur Entwicklung der Sprossungsformen vorhanden ist. Am Tage nach der Anlage der Kulturen — ca. 30 Tröpfchen — werden die Keimungsbilder nachgesehen. Einheitlichkeit derselben verbürgt die Einheitlichkeit der untersuchten Hefe; zeigen die Sproßverbände den sparrig verästelten Bäumchentypus, so ist weiter der Beweis der Oberhefe erbracht.

Für den Fall, daß sich doch noch Preßhefen finden, die lockere Sproßverbände zeigen, schlägt Verf. den solche Hefen erzeugenden Fabriken vor, eine sparrige Hefe in den Betrieb einzuführen, um auch für sie die oben erwähnte ebenso einfache wie sichere biologische Analyse brauchbar zu machen. Mohr (Berlin).

Lindner, P., Zur Einführung von Preßhefen vom sparrigen Typus. (Zeitschr. f. Spiritusind. Bd. XXVII. No. 22. p. 225—226.)

In Ergänzung seiner Mitteilungen über die Wuchsformen obergäriger Hefen (siehe vorhandenes Referat) teilt Verf. mit, daß die Untersuchung einer Anzahl Wiener Preßhefeprouben ebenfalls durchweg sparrigen Typus ergab. Als Vorteile für Preßhefefabriken,

die solche Hefen führen, gibt Verf. an: Es ist eine leichte Kontrolle möglich, ob der Wachstumstypus der Hefe einheitlich bleibt, und ebenso ist der Nachweis leicht zu erbringen, daß die Hefe nicht vermischt worden ist, und daß sie einem echten Preßhefetypus angehört.
Mohr (Berlin).

Referate.

Molisch, H., Leuchtende Pflanzen. Jena (G. Fischer) 1904.

Das Phänomen des Leuchtens von Lebewesen ist oft beachtet, aber verhältnismäßig wenig beobachtet und studiert worden, die darüber gemachten Erfahrungen werden vielfach ohne Kritik wiedergegeben und sind unglaublich zerstreut.

In langen, ein halbes Jahrzehnt lang fortgesetzten eigenen Studien hat H. Molisch die bisherigen Erfahrungen kontrolliert, kritisch beleuchtet und dabei eine solche Fülle neuer Erfahrungen über das Leuchten von Pflanzen sammeln können, daß dieses sonst nur sporadisch zu findende Phänomen fast jederzeit an geeignetem Materiale zu demonstrieren ist.

Fast von allen Lebewesen, Pflanzen und Tieren, höheren und niederen, liegen Angaben vor, nach denen sie von dem einen oder dem anderen Beobachter leuchtend gesehen wurden. Höhere Tiere scheinen nur dann selbstleuchtend zu werden, wenn eine Infektion mit Leuchtbakterien vorliegt (abgesehen von dem Vorhandensein eigener Leuchtorgane); die Angabe über das Leuchten von Mücken, Regenwürmern, Maulwurfsgrillen gehören hierher. Ebenso scheint die mehrfach beschriebene Lichtentwicklung durch phanerogame Pflanzen auf einem Nebenphänomen, einem elektrischen etwa, zu beruhen. Ein uneigentliches Leuchten zeigen auch gewisse Algen, das aber, ganz ähnlich wie der goldige Glanz des Prothalliums von *Schizostega*, durch Reflexion von Lichtstrahlen zustandekommt. Molisch konnte für diese Art Lichterscheinungen in *Chromophyton Rosanoffii* ein schönes Beispiel auffinden. Die vielfachen Angaben über leuchtende Meeresalgen konnte M. nur insofern bestätigen, als dieselben oft der Aufenthaltsort leuchtender Tiere sind.

Hingegen sind marine Peridineen, namentlich auf verschiedene Reize hin, ausgesprochene Leuchtwesen. In sehr mühevollen Versuchen fand M., daß, wenigstens in Triest, *Peridinium divergens* am meisten am Meeresleuchten beteiligt sei. Süßwasserperidineen und überhaupt das Süßwasserplankton bot nie Leuchterscheinungen dar.

Am längsten bekannt und mit am häufigsten beschrieben ist das von Hyphomyceten erzeugte Leuchten des „faulen“ (wohl richtiger verwesenden, Ref.) Holzes, und in sehr fesselnder Weise beschreibt M. die Entwicklung unserer Kenntnisse darüber. In

eigenen Versuchen konnte M. an modernen Stammstümpfen, die er in Laboratorien feucht hielt, recht oft ein, meist nur wenige Tage andauerndes Leuchten, beobachten, das teils auf die Entwicklung des Mycels von *Agaricus melleus* Vahl., teils auf die eines noch nicht in Fruktifikation beobachteten Pilzes, der vorläufig als „Mycelium x“ bezeichnet wird, zu beziehen ist. Die Mycelienteile konnten leicht in Reinkultur auf Brot gezüchtet werden, wobei es M. zum ersten Male gelang, auch Fruchtkörper von *Agaricus melleus* in künstlicher Kultur zu erhalten. Das Leuchten trat bei *Agaricus* erst auf, sobald sich Rhizomorphen bildeten, und hielt dann bis zu mehreren Monaten an; bei „Mycelium x“ beginnt es schon sehr frühzeitig, um bei genügendem Nährmaterial bis 1½ Jahre lang fortzudauern. Bei beiden Pilzen ist die Lichtentwicklung stets an das Gewebe der Pflanze gebunden und bleibt intracellular; eine Ausscheidung leuchtender Substanz in die Umgebung erfolgt niemals. Die oft als Lichtträger angegebenen Mycelien und Rhizomorphen der Xylarien konnte M. als solche nicht bestätigen (an Reinkulturen von *Xylaria Hypoxylon* und *X. Cookei*).

Blätter im verwesenden Zustande aus dem Walde gesammelt, leuchteten überaus häufig, doch gelang die Isolierung des Lichterzeugers hier leider nicht.

In sehr eingehender Weise hat M. unsere Kenntnisse über die durch Bakterien veranlaßten Lichterscheinungen gefördert und hierüber bereits auf der Karlsbader Naturforscherversammlung berichtet (s. auch Botan. Zeitung. 1903). Eines der überraschendsten Ergebnisse war bekanntlich, daß ein sehr großer Teil des in Läden zum Verkauf gelangenden Fleisches bei geeigneter Aufbewahrung leuchtend werden kann (Rindfleisch in 52, Kalbfleisch in 50 Proz. der untersuchten Fälle). Dabei wurde das aus dem Laden geholte Fleisch in flachen Stücken in sterilisierten Schalen bei ca. 9–12° gehalten; ein Zusatz von NaCl erwies sich als so vorteilhaft, daß bei einer später angewendeten Methode das Fleisch teilweise in eine 3-proz. NaCl-Lösung eingetaucht, oder mit einer solchen durchtränkt wurde. Es leuchtete dann oft sowohl das Fleischstück als auch die Flüssigkeit, in der es zur Durchtränkung gelegen hatte, wobei dann bis zu 89 Proz. der Fleischproben positive Resultate ergaben. Faul ist dabei das leuchtende Fleisch noch nicht, im Gegenteil ist vielmehr mit Eintreten der Fäulnis die Leuchtkraft erloschen.

Als Ursache wurden überall die schon seiner Zeit von Cohn beobachteten Mikroorganismen (*Bacterium phosphoreum*) gefunden und isoliert. Es ließ sich mit aller Sicherheit zeigen, daß diese eine sehr weite Verbreitung haben und sich ganz regelmäßig in Schlachthäusern, Fleischläden, Küchen etc. finden müssen.

Auch das Leuchten von Wurstwaren, das aber viel seltener auftrat (4-mal unter 50 Proben), konnte auf das *Bacterium phosphoreum* zurückgeführt werden. Leichenteile, über deren spontanes Leuchtendwerden einige Angaben vorliegen, wurden von M. niemals in diesem Zustande befunden; durch Infektion mit dem

Bacterium phosphoreum gelang es aber ohne weiteres, sie zum Leuchten zu bringen.

Bekannt ist das häufige Leuchten toter Seetiere, und es ist höchst anziehend, M.'s Beobachtungen darüber zu lesen. Als Ursache fanden sich wieder Bakterien, von denen 4 neue Arten als *Bacillus gliscens*, *photogenus*, *luminescens* und *lucifer* beschrieben werden konnten. Süßwasserfische leuchteten spontan niemals, obwohl Versuche in großer Zahl mit ihnen angestellt wurden.

Ein eigenes Kapitel ist dem Einfluß der Salze und der Temperatur auf das Verhalten der Leuchtbakterien gewidmet. Sehr viele Salze, außer dem längst verwendeten NaCl, erwiesen sich als geeignet, die Lichtentwicklung zu fördern, doch waren für verschiedene Arten auch verschiedene Salze die vorteilhaftesten. So erwies sich für das nicht marine *Bact. phosphoreum* ein Zusatz von KNO₃ und KCl als der beste, worauf dann erst NaCl, MgCl₂, JK und zuletzt die oft schon schädlichen Sulfate folgten; bei dem marinen *Bac. photogenus* war NaCl allen anderen Salzen überlegen, und konnte durch andere Chloride, weniger gut durch Jodide, Sulfate und Nitrate vertreten werden. Die Bedeutung der Salze ist offenbar eine osmotische, was M. direkt mit dem bevorzugten Milieu der Bakterien in ungezwungenen Zusammenhang bringen kann (salzreiches Meerwasser für marine Bakterien, das an Aschebestandteilen reiche Fleisch für das *Bact. phosphoreum*). In Bezug auf Temperatur liegt die untere Grenze des Leuchtens ziemlich tief, und innerhalb ziemlich weiter Grenzen läßt sich Lichtentwicklung nachweisen. Das *Bact. phosphoreum* leuchtet zwischen -5 und $+28^{\circ}$, das Mycelium x zwischen -1 und 34° , beide mit dem Optimum von $+5$ bis 20° und $+15$ bis 25° .

Ausführlich werden die Beziehungen des Leuchtens zur Ernährung und zur Atmung besprochen, überall unter kritischer Besprechung der weit zerstreuten Literatur. Mit Sicherheit läßt sich eine Beziehung des Leuchtens zur Atmung zur Zeit nicht feststellen, obzwar dessen Abhängigkeit vom Vorhandensein freien Sauerstoffes gar nicht zu bezweifeln ist. In Bezug auf das Wesen des Leuchtprozesses erscheint es am naheliegendsten, an die Bildung eines Leuchtstoffes, eines Photogens, zu denken, das durch einen Lebensprozeß intracellulär entsteht, unter Umständen aber auch nach dem Zelltode noch wirksam sein könnte.

Ein eigenes Kapitel beschäftigt sich mit den Eigenschaften des Pilzlichtes. In Bezug auf die Farbe ist der Zustand der beobachtenden Netzhaut nicht ohne Bedeutung. Dem ausgeruhten Auge erscheint Bakterienlicht gelbweiß, während das ermüdete ein bläulich bis smaragdgrünes Licht sieht. Die Farbe des Lichtes kann mit dem Nährboden wechseln. Das Pilzlicht ist meist mattweiß. In Bezug auf die Art des Leuchtens liegt ein sehr auffallender Unterschied gegen das tierische Licht in der Konstanz der Lichtentwicklung. Nur die Peridineen (wenn man diese zu den Pflanzen rechnen will) zeigen das blitzartige Aufleuchten auf äußere Reize hin, wie es für Tiere fast die Regel ist. Im Gegensatz dazu leuchten

Pilze und Bakterien so anhaltend, daß man selbst an eine technische Verwertung des Lichtes denken könnte. Voraussetzung derartiger „Bakterienlampen“ ist selbstredend die Verwendung intensiv leuchtender Arten, eventuell Heranzüchtung solcher durch Selektion. Ein mit Gelatine, die reichlich Kolonien von *Bact. phosphoreum* enthielt, ausgekleideter Erlenmeyer-Kolben leuchtete 14 Tage lang so gut, daß grobe Druckschrift, die Taschenuhr u. dgl. in seiner Nähe abgelesen werden konnte.

Die spektroskopische Untersuchung des Lichtes aller Pilze ergab ein kontinuierliches Spektrum. Photographisch wirksam erwies sich das Licht ohne weiteres, wobei freilich schöne Bilder erst nach längerer Exposition entstanden. Einige derartige Bilder sind in einer dem Werke beigegebenen Tafel reproduziert und lassen an Schärfe und Deutlichkeit wenig zu wünschen übrig. Von einer Durchdringungskraft für undurchsichtige Körper vermochte M. nichts wahrzunehmen und berichtet mehrfach diesbezüglich unterlaufene Irrtümer.

Physiologisch wirksam erwies sich das Bakterienlicht durch Hervorrufen von Heliotropismus, während es zur Bildung von Chlorophyll an etiolierten Keimlingen offenbar nicht intensiv genug war. Eine teleologische Bedeutung der Lichtbildung läßt sich, wenigstens für Bakterien und Pilze, nicht auffinden.

Mit einem Bericht über die bisher beobachteten angeblichen Leuchtbefunde bei Phanerogamen schließt das Buch. Einem kurzen Referate kann nur die Aufgabe zufallen, die einzelnen Resultate in gedrängter Form wiederzugeben. Erst beim Lesen des auch in der äußeren Ausstattung vollkommenen Buches wird man des Reizes inne werden, den die Darstellung eines der auziehendsten Probleme der Pflanzenbiologie ausübt und der den Leser andauernd gefesselt hält.

Bail (Prag).

Remy, Der gegenwärtige Stand und die künftigen Aufgaben der Bodenbakteriologie. (Illustr. landw. Ztg. 1903. No. 93—96.)

Verf. zieht 4 große Gruppen von Erscheinungen in den Bereich seiner Betrachtungen, welche durch die Tätigkeit von Kleinlebewesen im Boden ausgelöst werden, nämlich:

- 1) die einen großen Komplex von Einzelercheinungen umfassende Stickstoffumsetzung;
- 2) die Zersetzung der stickstofffreien organischen Substanzen;
- 3) die zu krankhaften Entwicklungsstörungen der Pflanze Veranlassung gebende Tätigkeit der Mikroorganismen;
- 4) die Rückwirkung, welche die Mikroorganismen auf die mechanische Beschaffenheit des Bodens und die Löslichmachung der in ihm enthaltenen mineralischen Nährstoffe ausüben.

Von den zur ersten Gruppe gehörigen wichtigen Vorgängen wird zunächst die Stickstoffsammlung durch Hülsenfrüchte eingehender besprochen. Verf. legt dar, welche große Bedeutung die Virulenzverhältnisse der Knöllchenbakterien für die Gewinnung von Impfmateriel höchster Wirksamkeit haben. Die stickstoffsammelnde

Energie von Impfbakterien kann eine zu geringe, unter Umständen aber auch eine zu große sein, es kann der Fall eintreten, daß diese Mikroben der höheren Pflanze nicht nur nicht nützen, sondern sich als Parasiten ihr gegenüber verhalten. In neuerer Zeit sind nun bemerkenswerte Fortschritte in der Gewinnung hochwirksamer Impfbakterien erzielt worden. „Wir sind jetzt im stande, Reinkulturen von Knöllchenbakterien zu gewinnen, die unter geeigneten Voraussetzungen den geimpften Hülsenfrüchten ein höheres Stickstoffsammelungsvermögen wie die spontan im Boden lebenden Knöllchenbakterien verleihen.“ Zum Beweise hierfür teilt R. das Ergebnis einiger erfolgreicher Impfversuche zu Pferdebohnen und blauen Lupinen mit. Die Impfung erwies sich als wirksam, obgleich der Boden die betreffenden Leguminosenbakterien bereits enthielt. Bei den Hiltner'schen Versuchen wurden in mehr als 50 Proz. aller Fälle sichere Impfwirkungen durch Anwendung von Reinkulturen erzielt ¹⁾.

Bei der in den Kulturböden unabhängig von höheren Pflanzen vor sich gehenden Stickstoffsammlung sind weit verbreitete Gruppen von Mikroorganismen beteiligt, mit welchen man in neuerer Zeit etwas näher bekannt wurde. Hierher gehören vor allem die zuerst von Beijerinck beschriebenen *Azotobacter*-Arten, deren Fähigkeit, den freien Stickstoff aufzunehmen, zweifellos erwiesen ist. R. betont mit Recht, daß bei der weiten Verbreitung solcher stickstoffbindenden Organismen eine Impfung von Boden oder Saatgut mit Reinkulturen wenig Aussicht auf Erfolg bieten kann, daß ein solcher vielmehr nur durch günstige Beeinflussung der in den Böden bereits vorhandenen bakteriellen Kräfte durch Maßnahmen der Bodenkultur zu erzielen ist. Er spricht dabei einer Durchlüftung des Bodens, den Wasser- und Wärmeverhältnissen, sowie der Bodenreaktion keine allzugroße Bedeutung zu, weil die Vielseitigkeit der bis jetzt bekannten Stickstoffsammler es wenig wahrscheinlich macht, daß sie durch Aenderungen im Bodenzustande nach diesen Richtungen hin weitgehend beeinflußt werden könnten. Dagegen ist allen Organismen, welche ohne Symbiose mit höheren Pflanzen Stickstoff sammeln, ein Bedürfnis gemeinsam: sie verlangen fertige organische Verbindungen als Energiequelle, d. h. sie müssen im Boden geeignete Humuskörper zur Verfügung haben. R. berechnet, daß bei einem im Mittel 2 Proz. Humus enthaltenden Boden den *Azotobacter*-Arten etwa 6000 kg organische Substanz pro Hektar zugänglich sein werden, daß sie demnach beim Verbrauch dieses Nährstoffkapitals etwa 48 kg Stickstoff pro Jahr und Hektar sammeln könnten, wenn man nach den Ergebnissen von Laboratoriumsversuchen annimmt, daß bei der Bindung von 8 Teilen Stickstoff 1000 Teile organischer Substanz verbraucht werden. Durch Begünstigung des Energieumsatzes wird sich also die stickstoffsammelnde Kraft des Bodens erhöhen lassen. „Die Zufuhr humusbildender Stoffe, alle Bodenkulturmaßnahmen, welche deren Zersetzung be-

1) Inzwischen hat Hiltner die noch weit günstigeren Ergebnisse seiner Impfversuche in Bayern mitgeteilt. (Siehe diese Zeitschr. Bd. XII. p. 497.)

schleunigen, die Begünstigung der Algen, die aus Kohlensäure und Wasser eine Energiequelle für sich und mittelbar auch für alle übrigen Bodenorganismen zu bilden vermögen, verdienen als Mittel zu dem genannten Zweck Beachtung.“ Daß gewisse Maßnahmen, durch welche der im allgemeinen bestehende Gleichgewichtszustand der Bodenbakterien in ganz bestimmter Richtung geändert wird, eventuell günstig auf die Stickstoffsammlung einwirken, ist nicht unmöglich, daher wird man vielleicht der Brache oder dem Anbau bestimmter Pflanzensorten einen günstigen Einfluß auf die bakteriologische Beschaffenheit des Bodens zuschreiben können.

Bei der Besprechung derjenigen bakteriologischen Vorgänge, welche im Boden zu einer Zersetzung und Umsetzung von Salpeter führen, weist R. darauf hin, daß der Boden im allgemeinen für die Tätigkeit der Salpeterzerstörer keine günstigen Bedingungen darbietet, weil er:

- a) für gewöhnlich sehr geringe Salpetermengen enthält, um deren Besitz die zu ihrer Zerstörung befähigten Mikroorganismen zudem mit den höheren Pflanzen in Wettbewerb treten müssen;
- b) meist arm an solchen Stoffen ist, welche als Energiequelle für die salpeterzerstörenden Bakterien geeignet sind;
- c) den letzteren, deren Tätigkeit durch Luftabschluß und feuchte Wärme begünstigt wird, ein wenig zusagendes „Klima“ bietet.

Nur zuweilen werden die Bedingungen für eine stärkere Denitrifikation im Boden gegeben sein, nämlich wenn eine größere Anhäufung von Salpeter stattgefunden hat, und wenn durch eine Düngung mit frischem Stallmist die Lebensbedingungen für die denitrifizierenden Bakterien günstigere geworden sind. Auch die eiweißbildenden Organismen können durch derartige Vorgänge zu stärkerer Vermehrung gebracht werden und dann durch Umformung größerer Mengen von Salpeterstickstoff in unlöslichen Pilzstickstoff unerwünschte Wirkungen ausüben. In besonderem Maße gefährdet ist derjenige Salpeter, welcher sich auf den von Pflanzen geräumten Feldern bildet. Man sollte sich diesen durch Anbau von Stoppelfrüchten nach der Hauptfrucht, oder wenn dies nicht möglich ist, durch Begünstigung des Wachstums von Schimmelpilzen und Algen zu erhalten suchen. R. gibt einige Hinweise auf diejenigen Maßnahmen, welche das Wachstum von Bodenalgen zu fördern geeignet sind.

Im Boden spielen sich auch Vorgänge bakteriologischer Art ab, welche zu einer Nutzbarmachung der mineralischen Pflanzennährstoffe führen. Die Löslichkeit mancher unorganischer Stoffe, z. B. der Phosphate, kann durch gewisse Bakterienarten oder vielmehr durch deren Stoffwechselprodukte erhöht werden. Durch die Tätigkeit von Fäulnisbakterien findet eine beständige Aufschließung von mineralischen Bestandteilen statt.

Bezüglich der Ackergare hält es R. für erwiesen, „daß dieser Bodenzustand mit einem der Zahl nach bedeutenden Organismenbestand Hand in Hand geht“. (Nach Hiltners Untersuchungen muß es sich bei diesen stark vermehrten Bakterien um ganz bestimmte, auf Gelatine nicht wachsende Arten handeln. Ref.)

Die Bildung von Humussubstanzen aus stickstofffreien organischen Stoffen kann nur unter reichlichem Sauerstoffzutritt im Boden stattfinden, deshalb ist es notwendig, Gründünger, Stallmist und alle sonstigen organischen Dungstoffe flach unterzupflügen. Die durch anaerobe Bakterienarten hervorgerufenen Zersetzungserscheinungen wirken stets nachteilig auf die Beschaffenheit der Böden ein.

R. erwähnt noch die Hiltnerschen Pektinvergärer und ihnen nahestehende Bakterienarten, welche die Leguminosensamen im Boden zum frühzeitigen Verfaulen bringen und vielleicht mit der Leguminosenmüdigkeit mancher Böden in Beziehung stehen. Er schließt seine beachtenswerten Ausführungen mit dem Satze: „In der Ergründung der für die Bodenbearbeitung maßgebenden bakteriologischen Gesichtspunkte liegt die nächste und wichtigste Zukunftsaufgabe der bodenbakteriologischen Forschung“.

Vogel (Posen).

Vibrans, Wie tief soll man pflügen, um sich die Tätigkeit der Bodenbakterien nutzbar zu machen? (Mitt. der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft. 1904. Stück 17.)

Verf. weist darauf hin, daß die im Boden vorkommenden stickstoffbindenden Bakterienarten zu ihrem Gedeihen Luft, Licht, Wärme und Wasser nötig haben, daß man daher mit jeder Durchlüftung der oberen Bodenschichten, sei es durch Pflugarbeit, Hacke oder Egge, die Entwicklung dieser den Boden mit Stickstoff anreichernden Organismen befördert. Er betont, daß eine üppige Vermehrung der hier in Frage kommenden Mikroben nur in den oberen Schichten der Ackererde, in der sogenannten Ackerkrume, vor sich geht und hält es aus diesem Grunde nicht für nötig, den Acker so tief wie bisher (25—30 cm) zu pflügen. „Der Boden sollte nicht tiefer umgekippt werden, als die dunkle Kulturschicht (Ackerkrume) reicht, weil die Versorgung der Pflanzen mit Luftstickstoff nur in den oberen 10—15 cm vor sich geht, in größeren Tiefen dagegen die Tätigkeit der Bakterien lahmgelegt ist.“ Verf. empfiehlt daher flaches Pflügen des Ackers unter gleichzeitiger Lockerung des Untergrundes mittels des Untergrundpfluges, dagegen ist die tiefe Furche, durch welche viel roher Boden nach oben kommt, zu vermeiden.

Von größter Bedeutung ist auch das sofortige Schälen der Getreidestoppel nach der Aberntung, weil dadurch der Wärme Eingang in den Boden verschafft und eine Unterbrechung der das Austrocknen befördernden Kapillarität erzielt wird. „Ein so behandelter Acker dürfte ohne Anwendung von stickstoffhaltigem Dünger die gleiche Ernte wie ein mit Chilisalpeter oder Ammoniak gedüngter Boden liefern.“

(In einem Nachwort weist Landesökonomierat Wölbling darauf hin, daß die von Vibrans besprochenen Vorgänge zur Zeit noch nicht ausreichend aufgeklärt, seine Darlegungen daher in mancher Hinsicht als solche theoretischer Natur aufzufassen sind.)

Vogel (Posen).

Eckhardt, H., Ueber die bakteriologischen Vorgänge im Bracheboden. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. Jahrg. II. 1904. Heft 4. p. 55—57.)

Der Verf. vertritt die Annahmen Hiltners und Störmers, laut welchen mit der Stickstoffansammlung und der Nitrifikation die durch Organismenwirkung ausgelösten Vorgänge im Bracheboden noch nicht erschöpft sind und schon laut bisherigen Versuchen auf die wichtige Rolle, die der Humus im Bracheboden spielt, hingewiesen werden muß. Es tritt demnach die Bedeutung des letzteren neben der chemischen Auffassung immer mehr in den Vordergrund, weshalb in das Arbeitsprogramm der k. agrikulturbotanischen Anstalt in München nebst Versuchen über Humuszersetzung auch solche über deren Bildung aufgenommen wurden.
Pósch (Grinád).

Prior, Die Bedeutung der gärungsphysiologischen Forschung für die Praxis. [Vortrag, gehalten auf dem österreichischen Brauertag in Wien am 11. Mai 1904.] (Allgem. Brauer- u. Hopfenzgt. Jahrg. XLIV. No. 121.)

Der Vortragende schilderte unter Berücksichtigung der Theorie Pasteurs und Heranziehung der Arbeiten von Hansen, Irmisch, Prior, Fischer, Lintner, Ling, Wiegmann, Traube und Buchner die Forschungen über die Natur und Tätigkeit der Hefe, welche eine so wichtige Rolle im Gärungsgewerbe und in der Bierbrauerei spielt.

Kausch (Charlottenburg).

Lintner, J. C., Ueber den Maischprozeß. [Vortrag, gehalten auf dem X. deutschen Brauertag zu Frankfurt a. M. am 30. Juni 1904.] (Allg. Brauer- u. Hopfenzgt. Jahrg. XLIV. 1904. No. 151.)

Der Vortragende weist zunächst kurz auf die Entwicklung der Ausführung des Maischprozesses vom Infusionsverfahren bis zum Dreimaischeverfahren hin, und spricht sich hierbei zuversichtlich darüber aus, daß das Dreimaischeverfahren über kurz oder lang durch ein den heutigen Verhältnissen mehr entsprechendes Verfahren verdrängt werden wird. Im Anschluß hieran erläutert er kurz bei Begründung obiger Anschauung die sich beim Maischprozeß abspielenden Vorgänge. Zum Schluß gedenkt er des Schmitzschen Verfahrens und des Springmaischverfahrens von Windisch.

Kausch (Charlottenburg).

Prior, Ueber neuere Maischverfahren. [Vortrag, gehalten auf dem österreichischen Brauertag in Wien am 18. Mai 1904.] (Allgemeine Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation. Jahrg. XXXII. No. 23.)

Der Vortragende besprach das Kurzmaischverfahren von Windisch, das Sudverfahren von Schmitz und das Springmaischverfahren von Windisch. Das erstgenannte Verfahren liefert ein tadelloses Bier, erspart gegenüber dem alten Verfahren

3—4 Stunden Zeit und hat eine erhebliche Verminderung (bis zu 44 Proz.) an Brennmaterial zur Folge, erfordert aber die Anwendung eines vorzüglichen Malzes. Das Sudverfahren von Schmitz erfordert besondere Vorrichtungen im Maischbottich und in der Würzepfanne, um die Maischen und Würzen mit Dampf kochen und erwärmen zu können. Bei diesem Verfahren wird die noch nicht verzuckerte Maische verkleistert und dadurch für die spätere Verzuckerung der Diastase zugänglich gemacht. Der Hauptzweck hierbei ist, die Ausbeute zu erhöhen. Das Windische Springmaisverfahren bezweckt die Regelung des Vergärungsgrades, indem die günstigsten Verzuckerungstemperaturen, d. h. die Temperaturen, bei denen viel Maltose und wenig Dextrin durch die Diastase gebildet wird, ausgeschaltet und Temperaturen innegehalten werden, bei denen möglichst wenig Maltose und viel Dextrine entstehen. Sodann berichtete der Vortragende noch von einem neuen Verfahren, welches ebenfalls den Vergärungsgrad zu regeln gestattet, ohne den Gang des gewohnten Maischverfahrens zu beeinträchtigen, welches den Ueberschuß an im Malz enthaltener Diastase zu beseitigen bezweckt. Es besteht darin, daß man ein dampfdichtes Zwischengefäß einschaltet, in das man vor Beginn des Einmaischens einen Teil des Malzschrotes bringt und sodann Dampf einleitet. Es wird dann nach $\frac{1}{4}$ -stündigem Kochen verdünnt mit heißem Wasser und setzt die von wirksamer Diastase befreite Maische anstatt des Zubrühwassers der aus dem übrigen Anteil, Malz und kaltem Wasser wie gewöhnlich bereiteten Maische im Bottich zu. Endlich berichtete Prior noch über seine Versuche über das Verhältnis der spaltenden zur verzuckernden Wirkung einer wässerigen Diastaselösung vor und nach dem Erwärmen.

Kausch (Charlottenburg).

Delbrück, M., Fortschritte im Brauereigewerbe. [Vortrag, gehalten auf dem X. deutschen Brauertag.] (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. Jahrg. XXVII. 1904. No. 28.)

Der Vortragende gibt einen Ueberblick über die Fortschritte auf dem maschinellen, dem chemisch-technischen und physiologischen Gebiet und erwähnt dabei die einschlägigen Arbeiten von Windisch, Lintner, Weiss, Buchner, Will, Lange, Hayduck, Schönfeld, Lintner und Haase. Im Anschluß hieran weist er auf die gegenwärtigen Verhältnisse in der Landwirtschaft betreffs der Gersteproduktion und erinnert zum Schluß an die Fortschritte im Mälzereigewerbe.

Kausch (Charlottenburg).

Wichmann, H., Einleitung der Besprechung der neueren Gärverfahren auf dem österreichischen Brauertage in Wien am 13. Mai 1904. (Allg. Brauer- u. Hopfenztg. Jahrg. XLIV. No. 122.)

Der Vortragende gibt einen kurzen Ueberblick über die neueren Gärverfahren und begann damit, daß er auf das wichtigste Moment der modernen Gärführung: die zielbewußte Reinlichkeit, hinwies.

Im Anschluß hieran erwähnte er die Anwendung von Desinfektionsmitteln, insbesondere Formaldehyd bei der Gärkellerarbeit. Sodann besprach er das Delbrücksche System der natürlichen Reinzucht der Hefe. Weiterhin wies er auf das Verfahren der warmen Gärführung, der Vakuumgärung und der Nathanschen Bierbereitung und die dabei erforderlichen Apparate (Hansen-Apparate) hin. Zum Schluß erwähnt er die achteckigen Gärbottiche aus Drahtglastafeln von Weber. Kausch (Charlottenburg).

Luff, G., Ueber Ursache und Verhütung der Infektion in der Würze- und Bierleitung. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. Jahrg. XXVII. 1904. No. 26 u. 27.)

Auf Grund eingehender Versuche kommt Verf. zu der Ansicht, daß die Leitungsinfektion nicht durch feste Biersteinansätze, sondern durch lockere Anhäufungen von Keimen hervorgerufen wird. Sie läßt sich nie ganz hintanhaltend, aber dadurch auf ein sehr geringes Maß zurückführen, daß man, etwa in wöchentlichen Pausen, die Leitung (eventuell unter Verwendung einer Bürste) mit einem Desinfektionsmittel behandelt und in der Zwischenzeit vor jedem Würze- oder Bierlaufen mit Wasser etwa 10 Minuten lang vorspült. Kausch (Charlottenburg).

Claussen, N. Hjelte, Zur Sarcinafrage. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Jahrg. XXVII. No. 29.)

Verf. wendet sich gegen die in No. 26 der Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen gemachten Äußerungen von H. Will und E. Braun über seine Abhandlung „Ueber die Sarcinakrankheit des Bieres und ihre Erreger“. Er erklärt, die in der letztgenannten Abhandlung niedergelegten Angaben aufrecht erhalten zu müssen und erklärt jede fruchtbare Diskussion über die Einzelheiten der Sarcinafrage so lange für unmöglich, als über die Frage betreffend die Verwendbarkeit des ammoniakalischen Hefewassers für die mikrobiologische Brauereianalyse so weit abweichende Ansichten noch bestehen. Eine im ammoniakalischen Hefewasser gezüchtete Sarcina-Kultur sei noch nicht im Biere zum Wachstum gebracht worden. Dagegen habe Schönfeld derartige Kulturen untersucht und gefunden, daß sie im Biere eine Krankheit nicht hervorrufen können. Ferner ergaben die Versuche Reichards, Luftsarcinen im Biere zu kultivieren, negative Resultate. Der Verf. habe aus sarcinakranken Bieren verschiedenster Herkunft den *Pediococcus damnosus* und *perniciosus* reingezüchtet, welche durch Impfen das Bier wieder krank machen und im ammoniakalischen Hefewasser sich nicht entwickeln können.

Es liege daher die Wahrscheinlichkeit vor, daß die im ammoniakalischen Hefewasser gedeihenden Sarcinen und Pediokokken belanglos seien, und der Beweis sei geführt worden, daß die gewöhnlich vorkommenden krankheitserregenden Pediokokken im ammoniakalischen Hefewasser gar nicht angehen können.

Danach sei der Schluß, daß das ammoniakalische Hefewasser für Brauereiuntersuchungen nicht völlig unbrauchbar sei, wohlberechtigt. Kausch (Charlottenburg).

Bordas, Sur la maladie de la tache jaune des chênes-lièges. (Compt. rend. de l'acad. des scienc. T. CXXXVIII. p. 928.)

Einige Korkeichen liefern Korke, welche die Eigenschaft haben, auf Flüssigkeiten einen unangenehmen Geschmack zu übertragen. Im gewöhnlichen Leben sagt man in solchem Falle, die Flüssigkeit schmecke nach dem Stopfen. Dem Verf. ist es gelungen, nachzuweisen, daß ein Pfropfen nur dann diesen „Stopfengeschmack“ übertragen kann, wenn er von Platten her stammt, die aus erkranktem Korke geschnitten sind. Der Franzose kennt diese Krankheit des Korkes unter dem Namen „la piqûre“ oder „la tache jaune“. Als Ursache derselben fand B. die Entwicklung mehrerer Schimmelpilzarten, insbesondere des *Aspergillus niger*, indem er Stückchen des erkrankten Korkes auf feste oder flüssige Nährböden brachte. Meist erhielt Verf. so *Aspergillus niger* als Reinkultur, zuweilen vergesellschaftet mit *Penicillium glaucum*. Es gelingt leicht, den Stopfengeschmack in Flüssigkeiten künstlich zu erzeugen, indem man die Flaschen mit solch infizierten Korken verschließt, wobei es sich zeigt, daß je nach Art der Flüssigkeit der Geschmack später oder früher auftritt.

Durch Herstellung von Dünnschnitten und Uebertragung derselben auf Nährböden ließ sich zeigen, daß das Mycel der Pilze sehr tief in das Zellgewebe einzudringen vermag.

Diese Krankheit des Korkes „la piqûre“ ist ziemlich verbreitet und ergreift die Bäume immer nur an der Wetterseite, wo sie vom Regen erreicht werden. Die Pilzsporen werden durch das Regenwasser und durch Insekten, insbesondere durch Ameisen verbreitet. Man hat vergebens versucht, die Insekten zu vernichten; nach Ansicht des Verf. empfiehlt es sich, am unteren Teile der erkrankten Eiche eine kreisrunde, leicht geneigte Rinne mit Abfluß anzubringen, um so das Rieseln des Wassers über den weiblichen Kork zu verhindern.

Koeppen (Hannover).

Tuzson, Johann, Anatomische und mykologische Untersuchungen über den falschen Kern und die Zersetzung des Rotbuchenholzes. (Mathemat. und naturwissenschaftliche Berichte aus Ungarn. Bd. XIX. 1903. p. 242—282. Mit 22 Textfiguren.)

Verf. erörtert zunächst kurz die Anschauungen, welche sich in der Literatur über das Entstehen und die Eigenschaften des falschen Kernes vorfinden, und welche von Th. Hartig, R. Hartig, Strasburger und E. Herrmann vornehmlich vertreten werden. Das Vorhandensein des falschen Kernes ist als abnorme Bildung aufzufassen, was ohne weiteres daraus hervorgeht, daß sich nicht in jedem Buchenstamme ein falscher Kern entwickelt. Fauläste bedingen in den meisten Fällen die Entstehung des Kernes, da diese den Pilzfäden die beste Gelegenheit bieten, bis tief in das Innere des Stammes einzudringen. Infolge der Pilzangriffe geht die Bildung des falschen Kernes vor sich, so daß der falsche Kern

als ein pathogenes Schutzholz aufzufassen ist. Die Bildung des falschen Kernes bringt Verf. damit in Zusammenhang, daß die inneren, trockeneren Teile des Stammes an den Lebensfunktionen nicht mehr teilnehmen. Kleinere äußere Verwundungen haben keinen Einfluß auf die Bildung des falschen Kernes. Er ist substanzreicher und dauerhafter als der Splint. Seine dunkleren Zonen sind durch Injektion nicht imprägnierbar, die leichteren, inneren Teile sind dagegen der Imprägnierungsflüssigkeit zugänglich.

Als Ursachen der Entstehung des falschen Kernes kommen verschiedene Pilze in Betracht. Oftmals gelingt allerdings die sichere Bestimmung des Pilzes nicht, da die aus den falschen Kernen gewonnenen Mycelien gewöhnlich nicht weiter wachsen. *Stereum purpureum*, *Tremella faginea* und der von Willkomm als *Xenodochus ligniperda* beschriebene Pilz, ferner *Hypoxylon coccineum*, *Bispora monilioides* und *Schizophyllum commune* dürften jedoch als die Haupterreger des falschen Kernes anzusehen sein. Um die Bildung des falschen Kernes zu verhindern, ist die Entstehung tieferer Wunden zu vermeiden, die absterbenden Aeste sind rechtzeitig abzuschneiden und die Schnittflächen mit einer antiseptisch und isolierend wirkenden Flüssigkeit zu behandeln.

Im zweiten Teile seiner Arbeit geht Verf. auf die Zersetzung des gefällten Holzes ein, worüber bisher wenig bekannt war. Bei der Zersetzung des frisch gefällten Buchenholzes, dem sogenannten „Ersticken“, tritt eine rasche Farbänderung des Holzes ein, welches in Kürze in seiner ganzen Ausdehnung violett-braun verfärbt und alsdann von weißen Streifen durchzogen wird. Die lebenden Parenchymzellen scheiden bei der Zersetzung Schutzgummi aus und die Gefäße werden durch Thyllen verschlossen. In dem in der Rinde liegenden Holze geht dieser Vorgang energischer vor sich, als im entrindeten. Deshalb läßt sich ersteres durch Injektion nicht imprägnieren.

Nach des Verf. Untersuchungen ist das Ersticken und die weitere Zersetzung des Buchenholzes sehr oft auf *Stereum purpureum* zurückzuführen. Mit dieser Art werden *St. lilacinum* und *St. violaceum*, da morphologisch nicht unterscheidbar, vereinigt. Ebenfalls treffen wir häufiger als Verursacher des Erstickens *Hypoxylon coccineum* an, daneben wirken auch *Tremella faginea*, *Bispora monilioides* und *Schizophyllum commune* auf die Zersetzung ein.

Durch das Ersticken und die weitere Zersetzung verliert das Buchenholz naturgemäß bedeutend an Wert zu technischen Zwecken. Die Versuche bezüglich der Konservierung des Holzes haben gezeigt, daß die Verhinderung der Infektion durch Anwendung antiseptischer Mittel erfolgreich sein kann, jedoch nur dann, wenn dies unmittelbar bei der Fällung bzw. bei der Verarbeitung des Holzes geschieht und das Holz noch vor der Entstehung der Risse unter Dach geführt wird. Ist die Infektion bereits erfolgt, so genügt selbst die übliche 2—3 Stunden währende Anwendung von

Dampf oder erhitztem Oele nicht, die einmal eingedrungenen Mycelfäden abzutöten.

Wenn das gefällte Holz abstirbt und austrocknet, und so den fäulniserregenden Verhältnissen ausgesetzt wird, so können die Pilzfäden die Erscheinungen des Erstickens nicht mehr hervorrufen und das Holz wird nicht mehr so rasch und in seiner ganzen Masse zersetzt, sondern nur in sich langsam um die Infektionsstellen verbreitenden Partien.

Außer den bereits erwähnten Pilzen wird das Buchenholz besonders von *Polyporus versicolor* und *Polyporus hirsutus* zersetzt, welche sich gewöhnlich um das von vorigen Pilzen schon angegriffene Holz ansiedeln und die zerstörende Arbeit jener fortsetzen.

Die im weißfaulen Buchenholze auftretenden schwarzen Zeichnungen bzw. unregelmäßige Räume einschließenden Mäntel werden von den Pilzen hervorgerufen. Ihr Entstehen beginnt noch im unzersetzten Holze, und dieselben sind als Schutzmittel um die angegriffenen Teile zu betrachten. Sie bestehen aus unzersetzten Holzzellen, welche von Pilzfäden durchsetzt und mit einer widerstandsfähigen braunen Substanz durchtränkt sind.

Die Rotfäule des Buchenholzes wird von *Poria vaporaria* und *Trametes stereoides*, mit welcher Art Verf. *Tr. mollis* vereinigt, verursacht. Daneben tritt auch *Xenodochus? ligniperda* als sekundärer Parasit auf. Sydow (Berlin).

Brefeld, O., Neue Untersuchungen über die natürliche Infektion und Verbreitung der Brandkrankheiten des Getreides. Vortrag, gehalten im Klub der Landwirte am 24. November 1903. (Nachrichten aus dem Klub der Landwirte zu Berlin. 1903. No. 466. p. 4224—4234.)

Schon zweimal hatte Verf. Gelegenheit, im Klub der Landwirte über den fortschreitenden Gang seiner Untersuchungen über die Brandpilze und Brandkrankheiten, mit denen er seit 25 Jahren fast ununterbrochen beschäftigt ist, zu berichten. 1889 konnte er dartun, daß die bis dahin übliche Beurteilung der Brandpilze als ausschließlicher Parasiten keine zutreffende war. Er zeigte, daß die Brandpilze in beliebigen Nährsubstraten außerhalb der Nährpflanze vegetieren können und daß es besonders der humusreiche und gedüngte Boden ist, der eine natürliche Vermehrung der Pilzkeime außerhalb der Nährpflanze herbeiführt. Bei den verschiedenen Formen der Brandpilze, die außerhalb der Nährpflanze zur Kultur herangezogen wurden, ergaben sich zwei auffällig verschiedene Entwicklungstypen. Bei der ersten durch Ustilagineen vertretenen Entwicklungsreihe erfolgte die Keimung zunächst wie im Wasser mit der Bildung eines meist vierzelligen Fruchträgers, der seitlich Konidien bildet. Während aber im Wasser die Keimung mit der Bildung weniger Konidien abschloß, wurde in Nährlösungen die Bildung endloser Konidien fortgesetzt, die abfielen und sich in direkter Sprossung in Hefeform ins Endlose vermehrten. Erst mit Erschöpfung der Nährlösungen erreichten diese Bildungen ihren

Abschluß und die einzelnen Konidien wuchsen wieder zu langen Keimschläuchen aus. Außerhalb der Nährpflanze war die Sproßform die ausschließliche Entwicklungsform, wie in ihr die Bildung der Brandsporen (Chlamydosporen) an den Mycelien. Bei dem zweiten Formtypus der Tilletiaceen ließ sich gleichfalls eine regelmäßige saprophytische Entwicklung konstatieren, die aber in langen Keimschläuchen mit richtiger Konidienbildung, meist von Sichelform, bestand. Die Konidien bildeten wieder Keimschläuche mit Konidien, bei einigen Arten aber daneben auch Sporen, die an die Brandsporen in der Nährpflanze erinnerten. Letztere Sporenform war aber innerhalb der Nährpflanze die bevorzugte, erstere außerhalb derselben. In einer zweiten Mitteilung 1888 konnte Verf. über die Erzeugung der Brandkrankheiten mittels der in künstlichen Substraten erzeugten Brandkeime und Konidien berichten. Es stellte sich dabei heraus, daß nur die jüngsten Stadien der eben aus dem Saatgute (Hafer, Gerste, Morhirse) austreibenden Keime für die Brandkeime empfänglich waren, daß die Keimlinge dagegen schon nahezu immun wurden, wenn das erste Scheidenblatt an der Spitze durchstoßen war. Ferner ergaben die Versuche, daß besonders der humose und gedüngte Boden für die Verbreitung der Brandkrankheiten geeignet ist. Später hat Verf. nahezu alle Brandpilze in Nährlösungen kultiviert und die Infektionsversuche mit den Nährpflanzen auf Hafer, Gerste, Weizen, Morhirse, *Setaria*, *Panicum*, Mais ausgedehnt. Die Resultate waren die gleichen wie früher; während aber bei *Panicum* und *Setaria* eine totale Infektion erreicht werden konnte, wurden bei Hafer, Gerste, Weizen gewöhnlich nur 10 Proz. brandige Stauden erreicht und nur durch künstliche Verlangsamung der Entwicklung des Saatgutes konnte der Prozentsatz der brandigen Pflanzen gesteigert werden. Die weiteren Untersuchungen ergaben, daß in der Infektion des ganzen Saatgutes nur eine Angriffsform der Brandpilze gegeben ist, daß aber noch andere Formen existieren. Zunächst zeigten sich in der saprophytischen Aufzucht bei dem Flugbrand der Gerste und des Weizens einerseits und dem des Hafers andererseits wesentliche Unterschiede. Während letzterer die Konidien in ungeheurer Menge erzeugt, hat ersterer keine Konidien und seine Keime verlieren bald ihre Keimkraft, die bei dem Avenaceenbrand jahrelang anhält. Von Brandkeimen, die in die jungen Keimlinge eindringen, konnte daher bei dem Hordeaceenbrand nicht die Rede sein. Ferner kamen bei desinfiziertem Saatgut, das in der Periode der Empfänglichkeit gegen Brandpilze völlig geschützt wurde, gleichwohl Branderscheinungen in den Saatefeldern zum Ausbruch. Woher stammen diese? Zu einer Entscheidung dieser Versuche gaben zunächst die Versuche mit dem Maisbrand die Direktive. Hier sind die jungen Keimlinge des Saatgutes teils schwer, teils gar nicht infizierbar, dagegen erfolgte an der entwickelten Pflanze, wo genugsam junge Gewebe der Infektion zugänglich sind, an allen Stellen eine erfolgreiche Infektion und Erzeugung umfangreicher Brandbeulen, nämlich an den jungen Blättern, den jungen Achsen, den jungen männlichen Blüten und

den jungen Fruchtknoten mit ihren Narben. Die eingedrungenen Brandkeime lokalisierten sich streng auf die Stelle des Eindringens und jede empfängliche Stelle bedurfte einer besonderen Infektion. Da die Brandsporen im Wasser nicht keimen, muß der Infektion saprophytische Aufzucht vorausgehen. Bei solcher, z. B. in dem gedüngten Boden erzeugen die Brandsporen die bekannten Konidien, die sich in direkter Sprossung vermehren, aber nicht nur in den Nährlösungen selbst, sondern auch Sprossungen in der Luft bilden. Letztere werden durch die Luft leicht vertrieben und bewirken die Infektion. Auch andere *Ustilago*-Arten bilden solche Luftkonidien. Bei unseren Cerealien ergaben sich solche Angriffspunkte der Infektion, aber nur in den Blütenständen. Bei der Infektion der jungen Fruchtknoten des Hafers etc. erfolgte das Eindringen der Brandkeime. Diese kamen aber nicht mehr in der betreffenden Pflanze zur Sporenbildung, sondern erst in den Blüten- und Fruchtständen der aus den infizierten Körnern hervorgehenden Pflanze. Die Inkubationsdauer von der Infektion im Keimling bis zur Brandbildung in den Ähren bemißt sich nach vielen Monaten im folgenden Jahre. Die Infektion des blühenden Getreides mit den Brandkeimen war nunmehr die Fragestellung für weitere Versuche. Wir beschränken uns hier auf die Versuche mit Weizenbrand. Die Sporen des Flugbrandes wurden, nachdem die Blüten sich hinreichend geöffnet hatten — (die geeignetste Zeit würden die ersten Morgenstunden gewesen sein, da da die Blüten völlig offen sind) — direkt aus brandigen Blütenständen in die einzelnen Blüten der Ähre von unten nach oben mittels Pinsels eingeführt und die obersten und untersten Blüten wurden, soweit sie wohl hinreichend entwickelt waren, entfernt. Außer dieser Infektionsform wurde als zweite die angewendet, daß im Wasser verteilte Brandsporen mittels Glasrohres übertragen wurden. Die Fruchtknoten der mit bunten Bändchen ausgezeichneten Ähren entwickelten sich weiter und brachten in den meisten Fällen Fruchtkörner. Diese wurden geerntet gebeizt, um äußerlich anhaftende Sporen zu zerstören, und im Frühjahr in sterilisierten Sand gesät, wie auf getrennten Quartieren nicht infizierte Körner. Die Pflanzen wurden unter sicherem Schutz im Zimmer so lange gehalten, bis die ersten Keimblätter durchstochen waren und das Stadium der Immunität auf dem Saatgut eingetreten war. Erst jetzt wurden sie in ein Land ausgesät, in welchem Jahre vorher kein Getreide und keine brandigen Pflanzen gezogen worden waren. Die Pflanzen gediehen vorzüglich und es zeigten sich schon mit dem ersten Auftreten der Ähren zahlreiche brandige Pflanzen. Es zeigte sich zuletzt, daß bis 70 Proz. der Pflanzen brandig waren, während auf den Vergleichsparzellen nicht eine einzige brandige Pflanze sich fand. Bei Gerste und Sommerweizen wurden weitere Blüteninfektionen mittels der Brandkeime ausgeführt. Aus den unter gleichen Kautelen ausgesäten Körnern ergaben sich beim Sommerweizen 24 Proz., bei der Gerste 6—7 Proz. brandiger Pflanzen; bei den Vergleichspflanzen kam kein Brand zur Erscheinung. Bei dem

Stinkbrand des Weizens und dem Testabrand der Gerste dürfte eine Infektion der Blüten durch die Brandsporen ausgeschlossen sein, dagegen erfolgte auch hier eine gleiche Infektion durch Brandkeime.

Die Getreidepflanzen haben mithin zwei Angriffspunkte für die Brandkeime, eine in den jungen Keimlingen und eine in den jungen Fruchtknoten, wo der Infektion eine lange Samenruhe folgt. Die Brandkeime können in dem Samen durch Beizen nicht getötet werden. Die letzten Resultate des Verf. haben noch ein besonderes Interesse, da ja nach Eriksson auch bei den Rostpilzen die Keime in dem Korn überwintern sollen. Verf. hat für die bekannte Mykoplasmatheorie Erikssons großes Interesse und hofft, daß Eriksson auf Grund dieser Mitteilungen seine Beobachtungen weiter ausführen wird, vielleicht auf einer breiteren Grundlage, als er es bisher getan hat.

Ludwig (Greiz).

Eriksson, J. und Tischler, G., *Puccinia glumarum* (Schm.) Eriks. u. Henn. in der heranwachsenden Weizenpflanze. Mit 3 Tafeln. (Kungl. Svenska Vetenskaps-Akademiens Handlingar. Bandet XXXVII. 1904. No. 6.)

Die vorliegende Publikation ist der erste Teil einer Arbeit: „Ueber das vegetative Leben der Getreiderostpilze“ von Eriksson. Verschiedene Getreiderostformen vermögen sich antöcisch fortzupflanzen. *Uredo dispersa* entwickelt sich im Juni auf Roggen. Sein Auftreten läßt sich nicht auf kurz vorher erfolgte Infektion mittels *Aecidiosporen* zurückführen, da sich das zugehörige *Aecidium Anchusae* erst im August—September findet und die *Anchusa* im Winter zu Grunde geht. Außerdem finden sich die zu den *Berberis*-, *Rhamnus*-, *Anchusa*-*Aecidien* gehörigen *Uredo*-formen nicht selten in Gegenden, wo die betreffenden *Aecidien*-wirte garnicht vorkommen. Ferner wurde die Beobachtung gemacht, daß an Getreidepflanzen, die unter größtmöglichem Schutz vor Ansteckung kultiviert wurden, Rostpusteln zum Vorschein kamen. Diese Tatsachen führten Eriksson bekanntlich zu der Annahme, daß der Pilz in irgend einer Form längere Zeit latent im Getreidesamen bzw. in der jungen Pflanze enthalten sein müsse. Da es bisher nicht gelang, den Pilz in diesem Stadium mikroskopisch nachzuweisen, so entstand die Hypothese von einer intimen Symbiose, die als Mykoplasma bezeichnet wurde. Diese Hypothese wurde, da sie mit den herkömmlichen Anschauungen nicht wohl vereinbar war, natürlich sogleich kräftig bekämpft. Die Verff. haben nun versucht, mittels geeigneter Fixierungs- und Tinktionsmethoden das Mykoplasma sichtbar zu machen. Es kamen hierzu vornehmlich Flemmings Chrom-Osmium-Essigsäure und Safranin-Gentianaviolett-Orange zur Verwendung. Das Untersuchungsmaterial wurde zu verschiedenen Zeiten (6. Okt. 1902 bis 4. Juli 1903) gesammelt und fixiert. Ein Mycel war nur in den im Sommer, nicht in den früher (Frühling und Herbst) eingelegten Objekten aufzufinden. Dagegen wurde in gewissen Zellen der Herbst- und Früh-

jahrpräparate ein eigentümlich dicker Plasmainhalt entdeckt, der für das Mykoplasma angesehen wird. (An Vergleichsobjekten, die erfahrungsmäßig von Rost verschont bleiben [*Bromus inermis*, *Festuca arundinacea* etc.] war ein derartig abnormer Zellinhalt nicht nachzuweisen.) Eine mehr oder weniger dichte Plasmamasse fand sich indes nicht selten auch zwischen den Blattzellen sowie in den Atemhöhlen. Verff. glauben, daß dieses Plasma sich dort lediglich infolge der Verletzungen bei der Präparation angesammelt hat. Später, im Juli, wurden in Weizenblättern, an denen voraussichtlich in wenigen Tagen Uredopusteln hätten zum Vorschein kommen müssen, in den Intercellularen Plasmabildungen, teils als kriechende Fäden, teils als unregelmäßige Massen von fast plasmodiumähnlicher Natur aufgefunden und als Protomycelium angesprochen. In dem Sekundärstadium des Protomycels beginnt eine Haustorienbildung und bald darauf treten Querwände im Protomycel auf. „Durch fortgesetzte Querteilungen entsteht ein echtes Pseudoparenchym, und an gewissen Stellen, wo die Zellen plasmareicher zu sein scheinen, bildet sich eine Art von Hymenium aus; hier werden die Sporen abgesondert.“ „Rückwärts sind wir bei unserer Untersuchung nicht weiter gekommen als bis zu dem Stadium der Getreidepflanze, in welchem der zarte Keimling aus dem Boden sprießt. Woher die oben geschilderten Plasmodien in die Blätter kommen, bleibt zu erforschen weiteren Studien vorbehalten.“ Ein Nachweis des Mykoplasmas im Samenkorn steht also noch aus. Der Arbeit sind 3 Tafeln mit anatomischen Abbildungen beigelegt. — Sind die Deutungen, die die Verff. bezüglich ihrer mikroskopischen Untersuchungen machen, richtig, so haben wir es jedenfalls mit einer sehr wichtigen Entdeckung zu tun. Ref. neigt auf Grund eigener mikroskopischer Beobachtungen und Erwägungen der Ansicht zu, daß auch bei manchen anderen pathogenen Pilzen manchmal mykoplasmaartige Zustände vorkommen.

Laubert (Berlin).

Störmer, K., Ueber eigentümliche, durch gleichzeitiges Auftreten der Radenkorn- und Federbuschkrankheit verursachte Mißbildungen beim Spelz. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. Jahrg. II. 1904. Heft 6. p. 75—78.)

Zur ausführlichen Mitteilung gab die Art und Weise Veranlassung, in welcher die von der Federbuschsporenkrankheit befallenen Spelzpflanzen unter dem Einfluß des Pilzparasiten *Dilophospora graminis* ihre Wuchsform veränderten und zu krüppeligen Gebilden deformiert wurden. Die Internodien sind auffallend gebogen, die Ähren herabgedrückt, die Blätter spiralig zusammengerollt und dadurch an ihrer Basis wulstig verdickt und es bleiben auch oft die Ähren in den Blattscheiden stecken. Derartig verkrüppelte, pilzbesetzte Pflanzen waren auch von der Radenkörnerkrankheit befallen und war *Tylenchus scandens* in ungeheurer Menge zu treffen. Es ist demnach die De-

formation der gleichzeitigen Infektion durch *Tylenchus* und *Dilophospora* zuzuschreiben. Die Krankheit kam in genannter Form nur vereinzelt vor; zur Vorbeugung wurde das Unschädlichmachen des Strohes, das Beizen der Samen, sowie das Aussetzen des Spelzbaues auf mindestens 2 Jahre empfohlen.

Pósch (Grinád).

Volkart, A., *Taphrina rhaetica* nov. spec. und *Mycosphaerella aronici* (Fuck.). (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. XXI. 1903. p. 477. Mit Taf.)

Auf *Crepis blattarioides* fand der Verf. in Graubünden grauweiße Ueberzüge an den Blättern, die auf blasig aufgetriebenen Stellen saßen. Meist sind alle Blätter eines Sprosses davon gleichmäßig befallen. Das Mycel verläuft subepidermal unter der oberen Epidermis und bildet hier ein geschlossenes, aus dickwandigen Zellen bestehendes Hymenium. Diese dickwandigen Zellen treiben zwei benachbarte Epidermiszellen auseinander und treiben dann in einen Ascus aus, der sich von der Tragzelle nicht durch eine Wand absetzt. Die Schläuche sind cylindrisch, oben abgerundet oder abgestutzt oder etwas eingesenkt; im Innern beginnen die Sporen sofort zu sprossen, so daß der Schlauch dicht von Sproßkonidien erfüllt wird. Die Art wird *Taphrina rhaetica* genannt.

Auf *Aronicum scorpioides* tritt in den Alpen häufig *Fusicladium aronici* auf, zu dem als Pyknidenpilz *Phyllosticta aronici* gehört. Die Pykniden erscheinen an älteren Flecken und überwintern.

Bereits Fuckel hatte vermutet, daß als Askenform eine *Mycosphaerella* dazu gehört, Verf. hat diese nun an überwinterten Blättern im Juni gefunden. Die Askensporen keimten leicht auf Gelatine und erzeugten ein üppiges, braunes Mycel, an dem sich später zweizellige Konidien bildeten. Die neue Art wird *Mycosphaerella aronici* genannt.

Ferner beschreibt Verf. *Cercospora aronicicola*, ebenfalls auf *Aronicum scorpioides*. Endlich wird noch eine *Phyllosticta* auf *Aronicum Clusii* beschrieben, aber nicht benannt.
Lindau (Berlin).

McAlpine, Daniel, Take-all and white-heads in wheat. (Department of Agriculture Victoria. Bull. 1904. No. 9.)

Genaue Beschreibung des Halmtöters *Ophiobolus graminis*, der auf Weizen in Australien häufig große Zerstörungen hervorruft, da er sich sehr schnell verbreitet. Der vom Verf. als neu beschriebene Pilz, *Hendersonia graminis*, gehört vielleicht als eine Pyknidenform zum oben genannten Pilze.

Matouschek (Reichenberg).

Kirchner, O., Eine Milbenkrankheit des Hafers. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XIV. 1904. p. 13—18. Taf. I.)

P. Marchal beschrieb 1902 in Frankreich vorgekommene Beschädigungen des Hafers, die von einer neuentdeckten Milbe *Tarsonemus spirifex* March. herrührten. Unlängst fand Kirchner denselben Schädling in Württemberg am Hafer vor, jedoch bei wesentlich verschiedenem Krankheitsbilde. Die Rispen waren in der Regel mit ihren unteren Aesten in der obersten Blattscheide stecken geblieben und hatten nur etwa die Hälfte der Länge einer normal ausgebildeten Rispe erreicht. Auch die drei obersten Internodien waren gegenüber normalen Pflanzen um mehr als die Hälfte verkürzt. Die dem Saugen von Milben häufig folgende erineumartige Trichombildung war unterblieben. Die Abweichung dieses Befundes von den französischen erklärt Verf. durch späteren Befall, so daß sich die besetzten Halme noch aus der Blattscheide befreien konnten. Die Milbe scheint sich unter den Getreidearten auf Hafer zu beschränken, da zweizeilige Gerste mitten unter diesem nicht angegriffen war. — Verf. gibt endlich noch eine Uebersetzung der Diagnose von *T. spirifex* und fügt dankenswerterweise Abbildungen der beiden Geschlechter und des Eies hinzu.

Jacobi (Tharandt).

Perkins, B. C. L., The leaf-hopper of the sugarcane. (Board of Commissioners of Agriculture and Forestry, Territory of Hawaii, Div. of Entom. Bull. 1903. No. 1. 38 p.)

Ein Zuckerrohrschädling aus der Ordnung der Schnabelkerfe, *Perkinsiella saccharicida* Kirk., und zwar zur Familie Delphacidae der Homoptera Fulgoroidea gehörig, wurde Anfang 1902 in den Zuckerrohrfeldern von Oahu zur Plage und ist seitdem auch von den anderen Inseln bekannt geworden. Verf. stellt die neuerliche Einschleppung aus Queensland als sicher hin. Kennzeichen für das Vorhandensein der Tiere geben die kleinen mißfarbigen Narben auf den Blättern, welche die Ausgänge der Eikammern andeuten, ferner die schwarzen oder weißen Ueberzüge von Ruß- und Mehltau, die sich auf den honigähnlichen Absonderungen jener Cikaden ansiedeln. Die Folgen eines stärkeren Befalles bestehen im Vertrocknen der noch unausgebildeten Blätter infolge des Saugens. Weiterhin bilden sich die Knoten zurück, so daß die Spitze des Halmes umknickt und das Wachstum stockt. Junge Rohrstengel kommen dabei überhaupt nicht zum Schießen. Die Frage nach der Widerstandsfähigkeit verschiedener Spielarten von *Saccharum officinale* gegen *Perkinsiella* ist noch nicht spruchreif. Direkte Mittel gegen den Schädling, wie Insektizide und Einfangen an künstlichem Lichte, sind ganz nutzlos. Dagegen ist die Hilfe der natürlichen Feinde, insbesondere der *Coccinella repanda* und des Hautflüglers *Ectodelphax* (!) *Fairchildii* n. sp., sehr wirksam und ihre künstliche Einführung in bedrohte Bezirke zu empfehlen. Vorbeugend helfe man sich durch Beizen der Stecklinge mit 2-proz. Sublimat, wodurch die vorhandenen Eier sicher abgetötet werden.

Jacobi (Tharandt).

Plettke, Fr., Ueber das massenhafte Auftreten einer *Simulia* in Nordwestdeutschland. (Aus der Heimat — für die Heimat. Jahrb. d. Ver. f. Naturk. an der Unterweser. Jahrg. 1901/1902, p. 44—47.)

Ende April 1902 traten beim Dorfe Jameln, Kreis Dannenberg i. Hann., dichte, rauchwolkenähnliche Schwärme von Stechmücken auf und überfielen auf der Weide Menschen und Vieh. Erstere konnten sich nur mit vieler Mühe der Tiere erwehren, letztere wurden in Nase, Ohr und Maul gestochen, weiblichen Tieren krochen die Mücken in die Scheide, männlichen in den Schlauch, um Blut zu saugen. Auf einigen Weiden lief das gequälte Vieh in vorhandene Büsche und streifte durch Scheuern an diesen teilweise die Quälgeister ab; wo solche Hilfsmittel fehlten, wurden die Tiere arg zugerichtet, so daß 7 Stück Rindvieh eingingen. Bei diesen stellte der Kreistierarzt erhebliche ödematöse Schwellung mit schwerer, tiefgehender Entzündung des Kehl- und Schlundkopfes, wie auch des umliegenden Gewebes fest; sonach war entzündliche Rachenbräune die Todesursache. Weiteren Verlusten wurde durch Einreiben des Kehlkopfes, Halses, der Augenbrauen, des Euters, der Geschlechtsteile mit stinkendem Tieröle vorgebeugt, worauf alle Belästigungen der Insekten aufhörten.

Eingesandte Mücken bestimmte O. Taschenberg als *Simulia reptans* oder *S. columbaczensis*, jedenfalls eine der gefürchteten Golubaczer Mücke der Donauniederungen nächstverwandte Art.

Ein erneutes Auftreten der Stechmücke im Frühjahr 1903 an drei Stellen des Wendlandes hat infolge rechtzeitig getroffener Vorkehrungsmaßregeln keine Schäden erzeugt.

Jacobi (Tharandt).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Schldrowitz, Ph., Die Bestimmung der proteolytischen Kraft des Malzes. (Allgem. Brauer- u. Hopfenztg. 1904. No. 172.)

Verf. stellte Versuche darüber an, ob prima Gelatinesorten von verschiedenen Lieferanten übereinstimmende Resultate bei der Bestimmung der proteolytischen Kraft des Malzes durch Verflüssigung von Gelatine geben, und wenn nicht, ob sich solche Gelatinesorten derart verändern lassen, daß sie ersterer Forderung genügen. Die von ihm in dieser Hinsicht untersuchten Gelatinesorten waren: 2 französische Blattgelatinen, 1 fein zerkleinerte englische Gelatine und 1 englische Blattgelatine gleicher Herkunft, wie die vorhergehende.

Der Versuch bewies, daß selbst beste Gelatinesorten ver-

schiedener Herkunft keine übereinstimmenden Resultate zu liefern brauchen. Verf. glaubt, als Grund hierfür die Verschiedenheit der einzelnen Gelatinesorten bezüglich ihres Säure- und Alkalienverhältnisses annehmen zu müssen.

Am Schlusse seiner Abhandlung gibt er die modifizierte Methode zur Darstellung der normalen Thymolgelatine an.

Kausch (Charlottenburg).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Zikes, H., Die Ueberprüfung von in Wasser löslichen Desinfektionsmitteln auf Mikroorganismen und eine neue Methode hierzu. (Allgem. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation. Jahrg. XXXII. Festnummer zum österreichischen Brauertag, 11.—13. Mai 1904.)

Verf. weist zunächst auf die Verfahren von Koch, Geppert, Schäffer zur Prüfung der Wirkung eines Desinfektionsmittels auf die Mikroorganismen hin und erläutert deren Uebelstände. Sodann erläutert er eine neue von ihm ausgearbeitete Methode, die er zur Ueberprüfung von Desinfektionsmitteln für den Brauereibetrieb als sehr gut und empfehlenswert befunden hat. Diese Methode beruht im wichtigsten Teile auf einer sehr raschen und vollständigen Trennung fast sämtlicher dem Desinfektionsmittel ausgesetzten Keime von diesem. Zu diesem Zwecke stellt man sich zuerst eine möglichst kräftige jugendliche Generation des betreffenden Mikroorganismus in dem für sein Gedeihen günstigsten Nährmedium her und gibt diese Kulturflüssigkeit in eine sterile Schleudereprouvette, worauf man ausgeglühtes und wieder abgekühltes Talkpulver in großer Menge zusetzt. Man verschließt hierauf die Eprouvette mit dem (sterilen) Daumen, schüttelt gut durch und zentrifugiert. Es eignet sich zu diesem Verfahren sehr gut eine neue von Dr. Moskovicz erfundene Schleudereprouvette, welche aus zwei Teilen, dem eigentlichen Eprouvettenkörper und einer das Ende der Eprouvette darstellenden Glaskapsel besteht und mittels eines Kautschukschlauches an dem Eprouvettenkörper befestigt werden kann. — In diesem abnehmbaren Teil bleibt das Sediment, das aus Talkpulver und Mikroorganismen besteht, vollkommen zurück und kann infolgedessen leicht von der Flüssigkeit getrennt werden. Nach der Trennung wird die Glaskapsel sofort an einer weiteren sterilen Eprouvette befestigt, welche mit sterilem Wasser gefüllt wird. Hierauf wird gut durchgeschüttelt und wiederum zentrifugiert. Endlich wird der untere Teil der Eprouvette wieder entfernt und an einer dritten Eprouvette befestigt, worauf man diese mit der zu prüfenden Desinfektionslösung beschickt. Man schüttelt nun kräftig um und läßt die Eprouvette 5—30 Minuten stillstehen, worauf wieder zentrifugiert und der

Bodensatz mit sterilem Wasser in einer vierten Eprouvete gewaschen wird. Schließlich werden die Mikroorganismen in einen für sie günstigen Nährboden gebracht.

Verf. faßt die Vorteile seiner Methode in folgendem zusammen: Das zu prüfende Desinfektionsmittel kann sowohl auf die wässrige Aufschlemmung der Mikroorganismen sowie direkt auf ihre Kultur in einwandfreier Weise und eine bestimmte Zeit lang wirken. Die behandelten Keime können fast in ihrer Gesamtmenge wieder in ihre Kulturflüssigkeit zur weiteren Untersuchung gebracht werden. Man kann die geprüften Keime von dem Desinficiens vollkommen befreien. Es kann bei einiger Vorsicht und mit gewisser Raschheit während der einzelnen Manipulationen vollständig steril gearbeitet werden. Kausch (Charlottenburg).

Wagner, F., Die Bekämpfung der Blattläuse und des Rußtaues bei Hopfen durch Eintauchen der Pflanzen in Schmierseifenlösung. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. Jahrg. II. 1904. Heft 7.)

Es wird in der Abhandlung das in der Spalter Gegend seit 1893 eingeführte Weissche Bekämpfungsverfahren, welches in dem Eintauchen der ganzen Hopfenpflanze in eine $\frac{3}{4}$ — $1\frac{1}{2}$ -proz. Schmierseifenlösung besteht, eingehend behandelt. Es wurde durch ein derartiges Waschen der Pflanzen am genannten Orte im Jahre 1903 eine Mehreinnahme von annähernd 60000 Mk. erzielt. Die Prozedur läßt sich nur bei solchen Arten der Aufleitung der Reben vornehmen, bei denen ein Abnehmen der Stöcke vom Längsdraht bzw. ein Wiederaufhängen derselben an letzterem möglich ist; dies kann beim Anbringen des Aufleitungsmateriales durch Anwendung gekrümmter Haken ermöglicht werden. In der Regel soll ein einmaliges Waschen kurz vor der Blüte des Hopfens genügen; sollten jedoch ausnahmsweise die Blattläuse schon zeitiger überhand genommen haben, ist eine zweimalige Behandlung nicht zu umgehen. Während der Blütezeit des Hopfens zu waschen, ist nicht ratsam, sollte jedoch dies geschehen müssen, wäre nur eine $\frac{3}{4}$ -proz. Schmierseifenlösung anzuwenden; bei früher Anwendung des Verfahrens werden immer stärkere, bis zu $1\frac{1}{2}$ -proz. Lösungen, für eine spätere Zeit 1-proz. Lösungen benutzt. Bei der Behandlung werden die Stöcke mittels Gabeln von den Drähten genommen, ringförmig in die mit Brühe gefüllten Fässer gelegt, einmal auf- und abgezogen und wiederum aufgehängt. Die Blattläuse werden hierdurch von der Seifenlösung gänzlich eingeschlossen, sterben nach einem Tage ab und es bleiben an deren Stelle nur mehr braune Punkte zurück. Das Verfahren wirkt angeblich auch physiologisch, da die Spaltöffnungen der Blätter durch die dünne Seifenhaut auf einige Tage verschlossen werden, bis durch Austrocknung der Haut ein Zerreißen und Abfallen derselben eintritt. Bis zu diesem Moment wird nun die Transpiration sehr gehindert und bei ungünstiger Wasserzufuhr dasselbe in der Pflanze bedeutend geschont. Es wird hiermit das Waschen der Pflanzen

über das weniger erfolgreiche, übliche Spritzen derselben gesetzt. Nach eingehend angeführten Kostenberechnungen des Verfahrens, die auch zu Gunsten desselben gegenüber dem Spritzverfahren sprechen, wird schließlich darauf hingewiesen, daß die beschriebene Bekämpfungsmethode keinen Schwarzbrand und somit auch keine Mißernte, insoweit Blattläuse und Rußtau die Ursache derselben sind, mehr aufkommen lasse; insbesondere auch nicht mehr in Tallagen, die mehr als Höhenlagen die Verbreitung der Schwärze begünstigen. Pósch (Grinád.)

Gordau, P., Ueber Mäusevertilgungsversuche mit dem Löfflerschen Mäusetyphusbacillus und mit baryumkarbonathaltigem Brot. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. Jahrg. II. 1904. Heft 5. p. 61—66.)

Aus den Versuchen geht hervor, daß das von Hiltner empfohlene barythaltige Mäusebrot ein sehr gutes und billiges Mittel zur Vertilgung der Feldmäuse ist; da jedoch von diesem nur jene Mäuse sterben, die davon fressen, ist bei eintretender Mäusekatastrophe dem Löfflerschen Mäusebacillus der Vorzug zu geben. Der bisherige Mißerfolg bei Anwendung desselben ist in der Benutzung der durch Salzlösungen abgeschwemmten Agarkulturen, anstatt Milchkulturen zu suchen; letztere kommen auch bedeutend billiger zu stehen. Die praktische Ausführung der Vertilgung geschieht durch Auslegen einer gehörigen Anzahl von Weißbrotwürfeln, die vorher mit verdünnter Bacillenmilch getränkt werden. Bei entsprechender Reinlichkeit und Vorsicht ist jede Gefahr für Mensch und Vieh ausgeschlossen.

Pósch (Grinád.)

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Meyer, Das Ultramikroskop. (Kosmos. 1904. Bd. I. Heft 1.)

Wallis, J. Frank, Cover-glass cultures and their possibilities in studying epidermic fungi. (Journ. American med. assoc. Vol. XLIII. 1904. N. 8. p. 531—534. 13 Fig.)

Systematik, Morphologie.

Beetles on mushrooms. (Journ. of the board of agric. Vol. XI. 1904. N. 5. p. 302—303.)

Biagi, Nello, Contributo alla conoscenza del genere Actinomyces. (Lo Sperimentale. [Arch. di biol. norm. e patol.] Anno LVIII. Fasc. 4. p. 655—716. 1 Taf.)

- Bubák, Fr. und Kabát, J. E.**, Mykologische Beiträge II. (Hedwigia. Bd. XLIII. 1904. Heft 6. p. 416—421.)
- di Donna, A.**, Su di una streptothrix patogena con esperimenti sull' immunizzazione. (Ann. d'igiene sperim. Vol. XIV. [N. Ser.] 1904. Fasc. 3. p. 449—459. 1 Taf.)
- Däggeli, Max**, Die Bakterienflora gesunder Samen und daraus gezogener Keimpflänzchen. [Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 22/24. p. 695—712.)
- Eberhardt, Albert**, Contribution à l'étude de *Cystopus candidus* Lév. [Fin.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 22/24. p. 714—725. 1 Taf.)
- Hamburger, Clara**, Die Konjugation von *Paramaecium bursaria* Focke. (Arch. f. Protistenk. Bd. IV. Heft 2. p. 199—239. 3 Taf. u. 2 Fig.)
- Hennings, P.**, Fungi amazonici III. a. cl. Ernesto Ule collecti. [Schluß.] (Hedwigia. Bd. XLIII. 1904. Heft 6. p. 353—399. 45 Fig.)
- , *Cudoniella Mildbraedii* P. Henn. n. sp. (Hedwigia. Bd. XLIII. 1904. Heft 6. p. 430—431. 1 Fig.)
- , Einige von Herrn G. Feurich, Göda, im Königreich Sachsen gesammelte Sphärospidaceen. (Hedwigia. Bd. XLIII. 1904. Heft 6. p. 432—433.)
- , *Doassansia Renkaufi* P. Henn. n. sp. auf *Hydrocharis morsus ranae* L. (Hedwigia. Bd. XLIII. 1904. Heft 6. p. 434.)
- Henneberg, W.**, Abnorme Zellformen bei Kulturhefen. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 38. p. 563—566. 34 Fig.)
- von Linstow**, Neue Beobachtungen an Helminthen. (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXIV. Heft 3. p. 484—497.)
- Lühe, M.**, Bau und Entwicklung der Gregarinen. 1. Teil: Die Sporozoiten, die Wachstumsperiode und die ausgebildeten Gregarinen. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. IV. Heft 1. p. 88—198. 31 Fig.)
- Prowasek, J.**, Kernveränderungen in Myxomycetenplasmodien. (Oesterr. bot. Ztschr. Jg. LIV. 1904. N. 8. p. 278—281. 4 Fig.)
- Schellenberg, H. C.**, Ueber neue Sclerotinien. [Vorl. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 22/24. p. 735—736.)
- Schorler, B.**, Beiträge zur Kenntnis der Eisenbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 22/24. p. 681—695.)
- Sydow, P.**, *Ustilagineae exsiccatae*. Fasc. 7: 50 species (ni. 301—350). Berolini 1904. In Mappe. 4°. 10,50 M.
- Traverso, J. B.**, Eine neue *Cercospora*-Art (*C. compacta* Trav.). (Hedwigia. Bd. XLIII. 1904. Heft 6. p. 422—424. 1 Fig.)
- Trouessart, E.**, *Leignathus blanchardi* n. sp. Acarien parasite de la marmotte des Alpes. (Arch. de parasitol. T. VIII. 1904. N. 4. p. 558—561. 2. Fig.)
- Vuillemin, Paul**, *L'aspergillus fumigatus* est-il connu à l'état ascospore? (Arch. de parasitol. T. VIII. 1904. N. 4. p. 540—542.)
- , *Le Lichthemia ramosa* (*mucor ramosus* Lindt.) champignon pathogène distinct du *L. corymbifera*. (Arch. de parasitol. T. VIII. 1904. N. 4. p. 562—572. 1 Fig.)
- Will, H.**, Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. 6. Wachstumsform der vier Hefen auf festen Nährböden. [Forts.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 36. p. 636—641; N. 37. p. 654—658.)
- Wurth, Th.**, Kulturversuche mit Puccinien vom Typus der *Puccinia Galii* (Pers.) [Vorl. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 22/24. p. 713—714.)

Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc.).

- Baur, E.**, Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte der Flechtenapothecien. Teil I. (Botan. Ztg. 1904. 24 p. 2 Taf. u. 1 Fig.) 3 M.
- Beckenhaupt, C.**, Einige Ansichten und Anfragen über den Ursprung der Enzyme. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 37. p. 548—552.)
- Boekhout, F. W. J. und Ott de Vries, J. J.**, Ueber die Selbsterhitzung des Heues. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 22/24. p. 675—681. 1 Taf.)

- Cao, Giuseppe**, Contributo allo studio dell' influenza del movimento delle acque sulla vitalità e sulla virulenza dei germi in esse contenuti. (Giorn. d. R. Soc. Ital. d'igiene. (Anno XXVI. 1904. N. 7. p. 313—327. 1 Fig.)
- van Hest, J. J.**, Beitrag zur Kenntnis obergäriger Hefe. Ueber die Menge der Hefeabgabe obergäriger Hefe im Zusammenhang mit der Attenuation und der Hefe-ernte. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 36. p. 633—636; N. 37. p. 651—654.)
- Lepeschkin, W. W.**, Zur Kenntnis der Erbllichkeit bei den einzelligen Organismen. — Die Verzweigung und Mycelbildung bei einer Bakterie (*Bacillus Berestnewi* n. sp.) (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 22/24. p. 641—648. 20 Fig.)
- Leschtsch, Marie**, Gärung und Atmung verschiedener Hefearten in Rollkulturen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 22/24. p. 649—656; Bd. XIII. N. 1/3. p. 22—28. 3 Fig.)
- Nikolski, M.**, Ueber den Einfluß der Nahrung von verschiedenen Kohlenhydraten auf die Entwicklung der Schimmelpilze. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 22/24. p. 656—675. 22 Fig.)
- Pantanelli, E.**, Zur Kenntnis der Turgorregulationen bei Schimmelpilzen. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XL. 1904. Heft 3. p. 303—367.)
- Stutzer, A. und Rothe, W.**, Die Wirkung einiger Mikroorganismen des Bodens auf schwefelsaures Ammoniak und auf Salpeter. (Fühlings landw. Ztg. Jg. LIII. 1904. Heft 17. p. 629—635.)
- Sur l'isolement de la zymase des végétaux et des tissus animaux. Revue critique. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVIII. 1904. N. 8. p. 535—544.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

- Haselhoff, E. und Gössel, Fr.**, Ueber die Einwirkung von schwefliger Säure, Zinkoxyd, Zinksulfat auf Boden und Pflanzen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1904. Heft 4. p. 193—201. 2 Taf.)
- Paternò, E. e Cingolani, M.**, Nuovo processo di disinfezione delle acque potabile. (Atti A. R. Accad. dei Lincei. Anno CCXCVIII. 1901. Ser. 5. Mem. d. cl. di sc. fis., mat. e nat. Vol. IV. 1904. p. 551—572.)

Fleisch.

- Friis, St.**, Sterilisation, Kogning of Kød. (Mannedskrift for Sundhetspleje. 1904. p. 8.) [Sterilisat., Kochen d. Fleisches.]

Bier, Brauerei.

- B.**, Einiges über das Pasteurisieren des Bieres. (Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrik. Jg. XXXII. 1904. N. 37. p. 451—452.)
- Saito, K.**, Ueber das Vorkommen von *Saccharomyces anomalus* beim Sakebrauen. *Tieghemella japonica* sp. n. (Journ. of the Coll. of Science Imp. Univers. of Tokyo. Vol. XVIII. 1904. Article 18/19.) 14 u. 8 S. 4°. 2,50 M.

Wein, Weinbereitung.

- Magnier de la Source, L.**, Analyse des vins. 2. édition. Paris 1904. 6 Fig. 8°. 2,20 M.
- Piot, R.**, Le transport de la vendange. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 68. p. 270.)

Andere Nahrungsmittel.

- Bellisari, G.**, Sulla presenza e sulla patogenità di streptotricce nelle polveri, residui di cereali. (Ann. d'igiene sperim. Vol. XIV. [N. Ser.] 1904. Fasc. 3. p. 467—433. 1 Taf.)
- Wender, Neumann**, Flußsäure als Konservierungsmittel. (Chemiker-Ztg. Jg. XXVIII. 1904. N. 73. p. 857.)

Milch.

- Harrison, F. C. and Connell, W. T.**, A comparison of the bacterial content of cheese cured at different temperatures. (Rev. gén. du lait. T. III. 1903—1904. N. 4, 5, 6, 7, 8.)
- Henseval**, Les altérations du beurre. (Bull. du Service de Surveillance de la Fabrication et du Commerce des denrées alimentaires. Compt. rend. mens. Juin 1904. Bruxelles. p. 368—373.)
- Jensen, C. O.**, Om Milk og Mælkekontrol. (Nordisk Tidsskrift f. Terapi. 1904. p. 129.)
- Örum, H. P.**, Om Mælkekontrollen i København. (Hospitalstidende. 1904. p. 222.)
- Teichert, Kurt**, Bakteriologisch-chemische Studien über die Butter in der Provinz. Butter mit besonderer Berücksichtigung der Tuberkelbacillen. (Klin. Jahrb. Bd. XII. 1904. Heft 5. p. 467—546.)
- Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Zusatzmittel zur Milch bei der Herstellung des Edamer Käses. (Milch-Ztg. Jg. XXXIII. 1904. N. 37. p. 582—583.)
- Vandevelde, A. J. J., de Waele, H. und Sugg, E.**, Ueber proteolytische Enzyme der Milch. (Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. V. 1904. Heft 11/12. p. 571—581.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

- Bachmann**, Aus der Praxis der Wohnungsdesinfektionen in ländlichen Orten. (Ztschr. f. Medizinalbeamte. Jg. XVII. 1904. N. 17. p. 553—555.)
- Calmette, A.**, Contribution à l'étude de l'épuration des eaux résiduaires des villes et des industries. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVIII. 1904. N. 8. p. 481—501. 2 Taf.)
- Kausch**, Neue Erfindungen auf dem Gebiete der Desinfektion und Sterilisation. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXV. 1904. N. 12/13. p. 369—375; N. 14. p. 433—442. 16 Fig.)
- Marsson, M.**, Die Abwasser-Flora und -Fauna einiger Kläranlagen bei Berlin und ihre Bedeutung für die Reinigung städtischer Abwässer. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasserversorgung. Berlin 1904. Heft 4. p. 125—166.)
- Spitta, Oscar**, Beitrag zur Frage der Desinfektionswirkung des Ozons. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasserversorgung. Berlin 1904. Heft 4. p. 176—182.)
- Steuernagel**, Die Probekläranlage zu Cöln-Niehl und die daselbst angestellten Untersuchungen und erzielten Ergebnisse. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. für Wasserversorgung Berlin. 1904. Heft 4. p. 1—124. 10 Pläne.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

- Appel, Otto**, Der Steinbrand des Weizens und seine Bekämpfung. (Westpreuß. landw. Mitt. Jg. IX. 1904. N. 35. p. 234—235.)
- Brenner, W.**, Die Schwarzfäule des Kohls. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 22/24. p. 725—735. 6 Fig.)
- Egyptian and Indian Cotton-seed-Cake. (Journ. of the board of agric. Vol. XI. 1904. N. 5. p. 288—291.)
- Ferraut, Victor**, Beiträge zur Kenntnis der wahren Birngallmücke. (Allg. Ztschr. f. Entomol. Bd. IX. 1904. N. 15/16. p. 298—304.)
- Jacobi, A.**, Verwandlung und Larvenschaden von *Brachyderes incanus* (L.). (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jg. II. 1904. Heft 9. p. 353—357. 3 Fig.)
- Matadorff, C.**, Neuere Arbeiten der landwirtschaftlichen Versuchsstation des Staates New York zu Geneva. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1904. Heft 4. p. 202—206.)
- Dr. N. H.**, Die Pansovaer Traubenkrankheit. (Weinlaube. Jg. XXXVI. p. 452—453.)

- Malafosse, L. de**, Sur l'extension du black-rot. (Vigne américaine. Année XXVIII. 1904. N. 8. p. 234—239.)
- Noak, F.**, In Portugal beobachtete Pflanzenkrankheiten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1904. Heft 4. p. 209—211.)
- Oudemans, C. A. J. A.**, Exosporina laricis Oud., eene nog onbekende, op den Lork (*Larix decidua*) levende, en voor dien boom zeer schadelijke, mikroskopisch - kleine zwamsoort. (Verslag van de gewone vergadering d. Wis-en natuurk. afdeel. 1904. K. Akad. van Wetenschappen te Amsterdam. Deel 12. 2. Ged. p. 745—749. 1 Taf.)
- Peach Leaf-Curl (*Exoascus deformans* Fckl.) (Journ. of the Board of agric. London. Vol. XI. 1904. N. 4. p. 239—241. 1 Fig.)
- Perraud, Joseph**, Le black-rot dans le Sud-Est. (Vigne américaine. Année XXVIII. 1904. N. 8. p. 239—244.)
- Potato disease (*Phytophthora infestans*). (Journ. of the board of agric. Vol. XI. 1904. 1904. N. 5. p. 284—288.)
- Reh**, Kleinere Arbeiten über Insektenschädlinge in Nordamerika. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1904. Heft 4. p. 206—208.)
- Reuter, E.**, In Finland im Jahre 1902 beobachtete Insektenschädigungen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1904. Heft 4. p. 208—209.)
- Ruhland, W.**, Der Hallimasch, ein gefährlicher Feind unserer Bäume. Flugbl. Gesundh.-Amt 1904. 4 p. m. Fig. 5 Pf.
- Salmon, Ernest S.**, On Erysiphe Graminis DC., and its adaptive parasitism within the genus *Bromus* (contin.) (Ann. Mycologici. Vol. II. 1904. N. 4. p. 307—343.)
- Schellenberg, H. C.**, Ueber das Vorkommen von *Hypodermella Laricis* v. Tubeuf. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jg. II. 1904. Heft 9. p. 369—371.)
- Schmidt, H.**, Blattläuse und Mittel zu ihrer Vertilgung. (Wiener landw. Ztg. Jg. LIV. 1904. N. 62. p. 568.)
- Seufferheld, C.**, Der Drahtwurm als Vernichter unserer Weinberge. (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtschaft. Jg. XVI. 1904. N. 7. p. 97—100.)
- Sleepy disease of tomatoes. Journ. of the board of agric. Vol. XI. 1904. N. 5. p. 300—302.)
- Solla**, Phytopathologisches aus Italien. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1904. Heft 4. p. 211—213.)
- Spraying for codling moth. (Journ. of the board of agric. Vol. XI. 1904. N. 5. p. 303—304.)
- Stiegler, A.**, Die Verheerungen der meisten Weingärten durch die *Peronospora* in Steiermark. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXI. 1904. N. 35. p. 347—348.)
- Stift, A.**, Bemerkungen über einige im heurigen Frühjahr aufgetretene Pflanzenschädiger. (Wiener landw. Ztg. Jg. LIV. 1904. N. 54. p. 497.)
- Tassi, Fl.**, La ruggine dei Crisantemi *Puccinia chrysanthemi* Roze. (Bull. Labor. Ort. Bot. Siena 6. 1904. p. 128—141.)
- The Cabbage Moth (*Mamestra brassicae* Linn.). (Journ. of the Board of agric. London. Vol. XI. 1904. N. 4. p. 223—225.)
- The Hessian Fly (*Cecidomyia destructor*). (Journ. of the board of agric. Vol. XI. 1904. N. 5. p. 282—284.)
- The Pea Beetle (*Brachus pisi*). (Journ. of the Board of agric. London. Vol. XI. 1904. N. 4. p. 225.)
- Thomas, F.**, Ueber eine neue Mückengalle von *Erysimum odoratum* Ehrh. und *E. cheiranthoides* L. (Mitt. d. Thüring. Bot. Ver. Jena 1903. 2 p. 8°. —, 30 M.
- Townsend, C. O.**, A soft Rot (*Bacillus aroideae*) of the Calla Lily. (U. S. Depart. Agr. Bull. Bur. Pl. Ind. 1904. 47 p. 9 Taf. u. 7 Fig. 2 M.
- v. Tubeuf**, Wirrzöpfe und Holzkröpfe der Weiden. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jg. II. 1904. Heft 8. p. 330—337. 5 Fig.)
- Turconi, M.**, Sopra una nuova specie di *Cylindrosporium* parassita dell' *Ilex furcata* Lindl. (Atti istit. bot. Univ. Pavia. N. Ser. 9. 1904. p. 4—6.)
- Vialla, P. et Facottet, P.**, Développement du black-rot. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 62. p. 246.)

- Wahl, Br.**, Der Buchenrüsselkäfer, ein gelegentlicher Schädling des Apfelbaumes. (Wiener landw. Ztg. Jg. LIV. 1904. N. 55. p. 504—505.)
- Wilcox, E. M.**, A leaf-curl disease Oaks. Bull. Alabama Agr. Exp. Stat. 1903. Montgomery Ala. 17 p. 1 Taf. u. 3 Fig. 8°. —, 80 M.
- Yoshinaga, T.**, On some parasitic fungi from Tosa. Bot. Mag. Tokyo 18. 1904. p. 27—37.)
- Zimmermann, A.**, Untersuchungen über tropische Pflanzenkrankheiten Deutsch-Ostafrikas. (Berichte üb. Land- u. Forstwirtschaft. in Deutsch-Ostafrika. Bd. II. 1904. Heft 1/2.)
- , Eenige pathologische en physiologische Waarnemingen over Koffie. De roode Mergziekte veroorzakt door Pentatoma plebeja etc. Mededeel. s'Lands Plantentuin 1904. 105 p. 4 Taf. u. 54 Fig. 6 M.
- Ziher, F.**, Das diesjährige Auftreten der Peronospora in Untersteiermark. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXI. 1904. N. 33. p. 329.)

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

- Arthold, M.**, Was ist von den Mitteln zur Reblausverteilung zu halten? (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXI. N. 31. p. 307—308.)
- Briem, H.**, Beobachtung beim Fangen der Drahtwürmer. (Blätt. f. Zuckerrübenbau. Jg. XI. 1904. N. 16. p. 251—253. [Oesterr.-Ungar. Ztschr. f. Zuckerind.])
- Bruchholz, K. G.**, Vernichtet die Blutläuse, die gefährlichsten Feinde des Apfelbaumes. (Oldenburg. Landwirtschafts-Blatt. Jg. LII. 1904. N. 17. p. 326.)
- Galli-Valerio, Bruno und de Jongh, Jeanne Rochas**, Ueber Vernichtung der Larven und Nymphen der Culiciden und über einen Apparat zur Petrolierung der Sümpfe. (Therapeut. Monatsh. Jg. XVIII. 1904. Heft 9. p. 452—455. 1 Fig.)
- Krüger, Friedrich**, Aufruf zum Kampf gegen das Unkraut, mit besonderer Berücksichtigung der Eisenvitriolbespritzungen. (Sächs. landw. Ztschr. 1904. N. 36. p. 796—798.)
- Johns**, Zur Bekämpfung der Mäuseplage mit dem Mäusetyphusbacillus. (Dtsche Landw. Presse. Jg. XXXI. 1904. N. 77. p. 659.)
- Kuntze, L.**, Bekämpfung der Blattläuse beim Rübensamen. (Blätter f. Zuckerrübenbau. Jg. XI. 1904. N. 15. p. 225—226.)
- Lokusiejewski, S.**, Elektrischer Apparat zum Ausrotten von Feldinsekten. (Blätt. f. Zuckerrübenbau. Jg. XI. 1904. N. 16. p. 247—251.)
- Pfreimbthner, J.**, Erfahrungen über das Löfflersche Infektionsverfahren zur Bekämpfung der Mäuseplage in einer neuen Art der Anwendung. [Schluß.] (Fühlings landw. Ztg. Jg. LIII. 1904. Heft 17. p. 662—667.)
- Seufferhold, C.**, Erfahrungen über die neueren Mittel zur Bekämpfung des Heu- und Sauerwurmes. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXII. 1904. N. 39. p. 364—365.)
- , Vorkommen und Vernichtung der Kleeseide. (Mitt. über Weinbau u. Kellerwirtschaft. Jg. XVI. 1904. N. 9. p. 145—146.)

Inhalt.

Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

Aus der mikrobiologischen Gesellschaft zu St. Petersburg.

Palladin, W. J., Die Leistungen der Fermente in lebenden und in abgetöteten Hefen, p. 353.

Originalreferate aus bakteriolog. und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Lindner, P., Die Bedeutung der Fest-

stellung des Infektionsquotienten gärender Flüssigkeiten unmittelbar nach der Probeentnahme, p. 354.

Lindner, P., Der Nachweis von Bierhefe in Preßhefe mittels der biologischen Analyse und die Einführung eines bestimmten Hefentypus in die Preßhefefabrikation, p. 355.

—, Zur Einführung von Preßhefen vom sparrigen Typus, p. 355.

Referate.

- Bordas**, Sur la maladie de la tache jaune des chènes lièges, p. 366.
- Brefeld**, O., Neue Untersuchungen über die natürliche Infektion und Verbreitung der Brandkrankheiten des Getreides, p. 368.
- Claussen**, N. Hjelte, Zur Sarcinafrage, p. 365.
- Delbrück**, M., Fortschritte im Brauereigewerbe, p. 364.
- Eckhardt**, H., Ueber die bakteriologischen Vorgänge im Bracheboden, p. 363.
- Eriksson**, J. und **Tischler**, G., Puccinia glumarum (Schm.) Eriks. u. Henn. in der heranwachsenden Weizenpflanze, p. 371.
- Kirchner**, O., Eine Milbenkrankheit des Hafers, p. 373.
- Lintner**, J. C., Ueber den Maischprozeß, p. 363.
- Luff**, G., Ueber Ursache und Verhütung der Infektion in der Würze- und Bierleitung, p. 365.
- McAlpine**, Daniel, Take-all and whiteheads in wheat, p. 373.
- Molisch**, H., Leuchtende Pflanzen, p. 356.
- Perkins**, R. C. L., The leaf-hopper of the sugar cane, p. 374.
- Plettke**, Fr., Ueber das massenhafte Auftreten einer Simulia in Nordwestdeutschland, p. 375.
- Prior**, Die Bedeutung der gärungsphysiologischen Forschung für die Praxis, p. 363.
- , Ueber neuere Maischverfahren, p. 363.
- Remy**, Der gegenwärtige Stand und die künftigen Aufgaben der Bodenbakteriologie, p. 359.

Störmer, K., Ueber eigentümliche, durch gleichzeitiges Auftreten der Radenkorn- und Federbuschkrankheit verursachte Mißbildungen beim Spelz, p. 372.

Tusson, Johann, Anatomische und mykologische Untersuchungen über den falschen Kern und die Zersetzung des Rotbuchenholzes, p. 366.

Vibrans, Wie tief soll man pflügen, um sich die Tätigkeit der Bodenbakterien nutzbar zu machen? p. 362.

Volkart, A., Taphrina rhaetica nov. spec. und Mycosphaerella aronici (Fuck.), p. 373.

Wichmann, H., Einleitung der Besprechung der neueren Gärverfahren auf dem österreichischen Brauertage in Wien am 13. Mai 1904, p. 364.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Schidrowits, Ph., Die Bestimmung der proteolytischen Kraft des Malzes p. 375.

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Gordau, P., Ueber Mäusevertilgungsversuche mit dem Löfflerschen Mäusetyphusbacillus und mit baryumkarbonathaltigem Brot, p. 378.

Wagner, F., Die Bekämpfung der Blattläuse und des Rußtaues bei Hopfen durch Eintauchen der Pflanzen in Schmierseifenlösung, p. 377.

Zikes, H., Die Ueberprüfung von in Wasser löslichen Desinfektionsmitteln auf Mikroorganismen und eine neue Methode hierzu, p. 376.

Neue Litteratur, p. 378.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D.C., U.S.A., Prof.
Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr.
Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W.50, Schaperstr. 2/3 I.
und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XIII. Band.

Jena, den 1. November 1904.

No. 13/14.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Ueber schwefelwasserstoffbildende Mikroben in Mineralwässern.

[Aus dem hygienisch-bakteriologischen Laboratorium des eid-
genössischen Polytechnikums. Vorstand Prof. O. Roth.]

Von Dr. N. Goslings in Zürich.

Schon seit langem sind Mikroben bekannt, welche in ihrer
Leibessubstanz Schwefel aufspeichern; so die Beggiatoa. Die-
selben Mikroorganismen sollten nach der Ansicht von Cohn¹⁾ auch
das Material für diese Schwefelabscheidung liefern, nämlich den

1) Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. I. 1875. Heft. 3.
Zweite Abt. Bd. XIII.

Schwefelwasserstoff, den sie aus Sulfaten erzeugten. Er hatte schon im Jahre 1863 die Beobachtung gemacht, daß *Beggiatoa*, in Landecker Thermalwasser gebracht, einen starken Geruch nach Schwefelwasserstoff hervorbrachte.

Ein ähnliches Ergebnis hatte ein Versuch Lothar Meyers¹⁾, der in mit Landecker Thermalwasser gefüllte Flaschen „Algen“ brachte. Als die Flaschen nach 4 Monaten geöffnet wurden, zeigten diese 5mal mehr H_2S als frisches Thermalwasser.

Planchud²⁾ machte dann bei Experimenten, die er anstellte, die interessante Beobachtung, daß in einer Flüssigkeit, welche Calciumsulfat und geringe Mengen organischer Substanzen enthielt, aus einer Schwefelquelle stammende Algen H_2S erzeugten. Wurde die Flüssigkeit zum Sieden erhitzt oder mit Hemmungsmitteln versetzt (Chloroform, Phenol), so hörte die Schwefelwasserstoffbildung auf, begann aber aufs Neue, wenn in die gekochte Flüssigkeit kleinste Mengen solcher Schwefelorganismen eingeführt wurden.

Auch Duclaux ist der Meinung, daß diese Organismen der Schwefelquelle Sulfate reduzieren.

Winogradsky³⁾ machte ähnliche Versuche wie Cohn und Lothar Meyer mit Langenbrücker Schwefelquellenwasser. Wenn er in dieses beggiatoenhaltigen Schlamm brachte, trat ein sehr starker Geruch nach H_2S auf, der sonst in dieser Quelle kaum bemerkbar war. Der Schwefelwasserstoff konnte sich nach seiner Ansicht teils aus dem Schwefel der *Beggiatoen*, teils aus den Sulfaten gebildet haben.

Die aktive Rolle bei der Schwefelwasserstoffbildung spielen jedoch andere Mikroben (Bakterien). Die Resultate der erwähnten Planchudschen Versuche erklärt Winogradsky in der Weise, daß mit den in die sterilisierten Flüssigkeit eingetragenen *Beggiatoen*-Fäden auch Bakterienkeime mit hineingelangten. Das gleiche dürfte auch bei den Lothar Meyerschen Versuchen der Fall gewesen sein.

Man beobachtet nun gelegentlich, daß Mineralwässer, die im normalen Zustande keinen Schwefelwasserstoff enthalten, einen deutlichen, oft gar starken Geruch nach solchem aufweisen, und zwar nur in einer kleinen Anzahl von Flaschen, während die meisten derselben den Geruch nicht zeigen.

Eine solche Beobachtung machten wir z. B. am Passugger Ulricuswasser, einer nach den Analysen von Prof. Treadwell stark alkalischen Eisenquelle. Nebenbei gesagt, macht es uns den Eindruck, als ob diese Erscheinung in dem erwähnten Wasser früher häufiger aufgetreten sei als heute. In einem kurze Zeit gelagerten Wasser ist dieselbe sehr viel seltener als in älteren Flaschen. Aus dem Gesagten geht hervor, daß H_2S sich erst nachträglich in den Flaschen bildet.

Der Umstand aber, daß nur einzelne Flaschen den Geruch

1) Journ. f. prakt. Chemie. Bd. XCI, 1.

2) Compt. rend. 1878 (zitiert in der monogr. Arbeit.)

3) Ueber Schwefelbakterien. (Bot. Zeitg. 1887. No. 31—34.)

zeigen, spricht dafür, daß die Entstehung des H_2S auf eine besondere, nur in den betreffenden Flaschen vorhandene Ursache zurückzuführen sei. Wir verfielen dabei auf den Gedanken, es möchten bakterielle Verunreinigungen im Spiele sein, die beispielsweise von einer nicht ganz genügenden Reinigung der Flaschen oder dergleichen herrühren konnten.

Material für Schwefelwasserstoffbildung durch bakterielle Reduktion ist in dem Wasser in Form von Sulfaten reichlich enthalten, was aus der erwähnten Treadwellschen Analyse hervorgeht. Ich lasse dieselbe hier folgen:

Zusammensetzung der Analyse.
10000 g Ulricuswasser enthält in Grammen:

Natrium	20,420000	Aluminium	0,001030
Kalium	0,461530	Chlor	4,955000
Lithium	0,028350	Brom	0,039165
Ammonium	0,049760	Jod	0,009448
Strontium	0,106600	Schwefelsäure (SO_4)	1,437200
Barium	Spur	Phosphorsäure (PO_4)	0,000430
Calcium	2,063400	Borsäure (BO_3)	0,080550
Magnesium	1,089600	Arsensäure (As_2O_5)	0,000220
Eisen	0,116160	Kieselsäure (SiO_2)	0,263130
Mangan	0,003595	Kohlensäure (CO_2)	27,732960

Es gibt bekanntlich sehr viele Arten Mikroorganismen, die in den verschiedensten Medien Schwefelwasserstoff produzieren, dessen Quellen jedoch meistens schwefelhaltige Substanzen sind, während sulfatreduzierende Mikroorganismen bis jetzt nicht so häufig nachgewiesen wurden.

Schon aus den erwähnten früheren Arbeiten, namentlich derjenigen Winogradskys, geht hervor, daß eine Reduktion von Sulfaten durch Mikroben eintreten kann. Was nun die Beobachtungen dieser Forscher an Mineralwässern betrifft, so ist zu betonen, daß durch die Einführung von größeren Algenmengen für die allenfalls vorhandenen Bakterien ein wesentlich anderes Nährsubstrat geschaffen wurde, als das in Flaschen gefüllte Mineralwasser.

Das von uns untersuchte Wasser enthielt namentlich keine andere Schwefelquelle als die Sulfate. Wir fahndeten deshalb ganz besonders nach Mikroben, welche bei Abwesenheit jeder anderen Schwefelquelle Schwefelwasserstoff erzeugten.

Eine solche Bakterienart wurde von Beijerinck¹⁾ in stark verunreinigtem Wasser der Delfter Stadtgräben und im Bodenschlamm aufgefunden in Gestalt eines obligat anaeroben *Spirillum*, von ihm *Spirillum desulfuricans* genannt.

Sartet²⁾ kultivierte aus Brackwasser in einer Nährflüssigkeit, die als S-Quelle nur $MgSO_4$ enthielt, einen fakultativ anaeroben *Bacillus*, dem er den Namen *B. desulfuricans* gab. Eine Bouillonkultur desselben erzeugte, mit sterilisiertem Schlamm und Wasser

1) Ueber *Spirillum desulfuricans* als Ursache der Sulfatreduktion. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. I. 1895. p. 49—104.)

2) Ueber Reduktion von Sulfaten in Brackwasser durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 648—695.)

in eine Flasche gebracht, Schwefelwasserstoff. Saltet gibt aber selber zu, daß der Versuch nicht einwandfrei war, da Bouillon eiweißhaltig ist und somit eine Schwefelquelle enthält.

Bei Ausschaltung der letzteren konnte er keine Schwefelwasserstoffbildung nachweisen.

Beijerinck¹⁾, der diesen Organismus ebenfalls einer näheren Untersuchung unterzog, betrachtet ihn als eine Varietät von *Bact. coli commune*.

Van Delden²⁾ fand dann in Meerwasser ein sulfatreduzierendes Spirillum auf, dem er den Namen *Microspira aestuarii* gab. Er gebrauchte als Indikator zum Nachweise des Schwefelwasserstoffes Mohrs Salz, während Frome³⁾ als sehr einfaches Mittel Eisengelatine, welche er durch Zusatz von weinsauem oder essigsauem Eisen oder Eisensaccharat zu gewöhnlicher Nährgelatine herstellte, benutzte. Da jedoch Nährgelatine schon eine andere Schwefelquelle enthält (Pepton), ist die Methode Fromes zum Nachweise der Sulfatreduktion für uns nicht zu gebrauchen.

Bevor ich nun zu den Resultaten meiner eigenen Versuche übergehe, lasse ich diejenigen von Eisenhut folgen, die, wie die meinigen, in unserem Laboratorium auf Anregung von Prof. Roth ausgeführt wurden. Eisenhut konnte die Versuche aus äußeren Gründen nicht weiter verfolgen.

In erster Linie füllte er mehrere kleine Probeflaschen mit schwefelwasserstofffreiem Passugger Wasser und infizierte einen Teil derselben mit Sand, der gebraucht wird, um die Flaschen zu reinigen, natürlich aber nicht sterilisiert wird und deshalb eine große Menge von Bakterien enthält, unter denen recht wohl solche sein konnten, die an der erwähnten H_2S -Bildung beteiligt waren. Einen anderen Teil versetzte er mit nach H_2S riechendem Passugger Wasser, während er Kontrollflaschen ungeimpft ließ. Alle Flaschen wurden mit durch Auskochen in Wasser sterilisierten Korken verschlossen und weiter mit Paraffinüberzug versehen. Beim Oeffnen zeigte sich, daß ein etwas größerer Prozentsatz von den ungeimpften Flaschen Schwefelwasserstoffbildung aufwies, als von denjenigen, die mit Sand oder mit nach Schwefelwasserstoff riechendem Passugger Wasser geimpft waren. Dieser Versuch war indes nicht einwandfrei, indem ein Teil der Flaschen unzureichend verschlossen war und das Wasser also nachträglich mit den die Schwefelwasserstoffbildung verursachenden Keimen infiziert sein konnte.

Als Zeichen, daß das Wasser schwefelwasserstoffhaltig war, fand sich immer das Schwarzsein des Korkes. Dies veranlaßte Eisenhut und nachher auch mich, bei der weiteren Verarbeitung der von Eisenhut angesetzten Versuchsflaschen von in solcher Weise angegriffener Korksubstanz Präparate und Kulturen anzufertigen, um so auf die Ursache der Schwefelwasserstoffbildung zu

1) Noch ein Wort über die Sulfatreduktion in den Gewässern. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VI. p. 44.)

2) Beitrag zur Kenntnis der Sulfatreduktion durch *Bacterium A. v. Delden*. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XI. p. 81—113.)

3) Dissert. Marburg 1891.

kommen. Einmal zeigte das mikroskopische Präparat nur Mycelfäden, während ich immer nur Stäbchen nachweisen konnte. Von dem Kork legte ich Platten und hohe anaerobe Kulturen an. Die Platten zeigten außer einer *Penicillium*-Art meistens Reinkulturen von *B. fluor. liquef.*; die hohen anaeroben Kulturen nur die eine *Penicillium*-Art, die ich als *Penicillium glaucum* ansprechen mußte. Das stetige Vorkommen von *Penicillium* veranlaßte mich, diese Pilze näher zu untersuchen auf ihr Vermögen, Sulfate zu reduzieren. Daher impfte ich einige Erlenmeyer-Kölbchen mit sterilem Brotbrei und K_2SO_4 mit *Penicillium glaucum*; ferner mit *P. brevicaulis* und *Aspergillus glaucus* und brachte auf den Watteverschluß der Kölbchen Stanniol, nachdem ich erst ein angefeuchtetes Stück Bleipapier eingehängt hatte, um möglichst leicht H_2S nachweisen zu können. Obwohl ein reichliches Wachstum stattfand, entwickelte sich keine Spur von Schwefelwasserstoff. Nun gebe ich zu, daß die Bedingungen hier sehr ungünstig waren, viel ungünstiger, als sie bei dem in Flaschen gefüllten Passugger Wasser vorliegen, da ein ziemlich großes Quantum Luft anwesend war, das der event. gebildete H_2S sofort wieder hat oxydieren können.

Im Wasser selbst hatte schon Eisenhut konstant einen auf Gelatine gut wachsenden *Bacillus* nachgewiesen, der in einem Gemisch von Passugger Wasser und Pepton H_2S entwickelte. Dies veranlaßte mich, diese gelbe Bakterienart wieder aufzusuchen. Ich fand bald in dem H_2S -haltigen Passugger Wasser solche Farbstoffbildner und stellte mit den verschiedenen Arten derselben weitere Versuche an. Zu diesem Zwecke verimpfte ich dieselben in Reagenzgläser mit Peptonwasser und nach erfolgtem Wachstum goß ich diese Kulturen zu sterilisierten Flaschen mit H_2S -freiem Passugger Wasser, die ich dann weiter mit solchem Wasser bis ganz oben füllte. Sie wurden dann mit sterilisierten Korken, die noch einen Paraffinüberzug erhielten, ganz luftdicht verschlossen. Um eine Bildung von Schwefelwasserstoff gleich ohne Öffnen der Flaschen sehen zu können, befestigte ich an den Korken mittels Eisendraht Röhrchen, in die ich einen Streifen angefeuchtetes Bleipapier brachte. Die Flaschen wurden bei gewöhnlicher Temperatur im Dunkeln sich selbst überlassen. Nach 7 Monaten war an keinem der Bleiacetatstreifen Schwärzung nachzuweisen und deshalb öffnete ich die Flaschen, nachdem ich sie ein wenig in Wasser angewärmt hatte, um die geringste Spur H_2S durch den Geruch nachweisen zu können. Sie zeigten aber alle weder H_2S -Bildung, noch durch Präparate nachweisbare Bakterien. Die Versuche wurden alle doppelt ausgeführt; aus ihnen geht hervor, daß die eingepflichten Bakterienarten in Passugger Wasser zu Grunde gegangen und keinen Schwefelwasserstoff gebildet hatten, trotzdem außer den Sulfaten des Mineralwassers in dem zugefügten Pepton eine weitere Schwefelquelle vorhanden war. Wohl möglich, daß das Absterben dieser aeroben Arten auch auf Sauerstoffmangel und die CO_2 zurückzuführen ist.

Wie schon erwähnt, war es Eisenhut nicht gelungen, den

Schwefelwasserstoffbildner in dem zur Reinigung der Flaschen verwendeten Sand aufzufinden. Ich werde später auf ähnliche von mir angestellte Versuche zurückkommen. Vorerst drängte sich mir die Frage auf, ob vielleicht das beim Transport der leeren Flaschen angewandte und in kleinen Partikelchen bei der Reinigung zurückgebliebene Stroh oder Aehnliches eine Rolle spiele. Solche Partikelchen konnten die Flaschen durch die ihnen anhaftenden Keime infizieren oder aber als Nährsubstanz für schon vorhandene Keime dienen.

Ich setzte deshalb dem Passugger Wasser zu:

1) Steriles Stroh, in Aufschwemmungen von Bakterien getaucht, die ich aus H_2S -haltigem und normalem Passugger Wasser isoliert hatte.

2) Nicht steriles Stroh; nicht mit speziellen Bakterien geimpft.

3) Steriles Stroh allein.

Die Flaschen (4 Stück) mit nicht sterilisiertem Stroh zeigten alle nach 4 Wochen Schwefelwasserstoff. Von den beiden mit sterilisiertem Stroh allein versetzten Flaschen wies eine auch nach 3 Monaten keinen Schwefelwasserstoff auf; die andere zeigte schon nach 4 Wochen H_2S -Bildung.

Von den sub 1 aufgeführten 12 Flaschen zeigten nur vereinzelte Schwefelwasserstoff und zwar nie beide mit der gleichen Art geimpfte Flaschen.

Ein Einfluß dieser Bakterien auf die H_2S -Bildung konnte somit nicht bewiesen werden. Vielleicht waren die Wachstumsbedingungen für sie ebenso ungünstig, wie für die erwähnten früher untersuchten Farbstoffbildner.

Eine Isolierung der H_2S -bildenden Arten aus mit nicht sterilisiertem Stroh geimpften Flaschen gelang mir wegen Ueberwucherung mit Schimmelpilzen nicht.

Von den 2 Flaschen mit sterilisiertem Stroh zeigte nur eine H_2S -Bildung.

Wir möchten aber hieraus, der geringen Zahl der Versuche halber, keinen bestimmten Schluß ziehen. Dagegen sprechen die Versuche mit nicht sterilisiertem Stroh dafür, daß solches unter Umständen die Ursache zur Schwefelwasserstoffbildung in Passugger Wasser sein kann. Welche Bakterien dabei in Betracht kommen, konnte ich, wie gesagt, nicht feststellen.

Da es mir nach dieser Methode nicht gelang, die Schwefelwasserstoffbildung auf gewisse Arten von Bakterien zurückzuführen, verwendete ich in der Folge das Verfahren von Beijerinck mit Bleikarbonatgelatine, bei welchem die H_2S -bildenden Kolonien durch Schwarzfärbung kenntlich gemacht werden.

Zu diesem Zwecke ging ich aus von nach H_2S riechenden Flaschen Passugger Wassers und goß Platten mit Gelatine, die durch Zusatz von Bleikarbonat milchigweiß getrübt war. Das Bleikarbonat hatte ich vorher mit heißem Wasser ausgewaschen, um eventuelle wasserlösliche Verunreinigungen, die verzögernd auf das Wachstum wirken konnten, zu beseitigen. Auf den meisten Platten bekam ich

kein Wachstum, außer einigen Schimmelpilzen, wahrscheinlich als Verunreinigung. Aus einzelnen Flaschen dagegen, die nicht zu alt waren, züchtete ich eine schwefelwasserstoffproduzierende Art, die auf der Platte runde, die Gelatine nicht verflüssigende Kolonien mit braunem Kern und etwas hellerer Zone zeigte. Dieselbe Art bekam ich, wenn ich hohe anaerobe Kulturen mit dieser Bleikarbonatgelatine aus dem gleichen Wasser anfertigte.

Eine Reinkultur bildete auf Bleikarbonatgelatine sofort wieder Schwefelwasserstoff. Ich habe diese Art nicht weiter identifiziert, weil die Versuche, mit einer Aufschwemmung derselben in Passugger Wasser Schwefelwasserstoff zu erzeugen, scheiterten. Dies konnte seinen Grund darin finden, daß die zugesetzten Bakterien unter diesen Bedingungen nicht angegangen waren. Da ich aber aus den Flaschen, die ich 2 Monate früher mit dieser H_2S -produzierenden Art geimpft hatte, auf Platten sofort wieder ein Wachstum dieser Mikroben bekam, ist damit der Beweis erbracht, daß diese Bakterienart zwar H_2S auf Gelatine produziert, aber nicht aus Sulfaten in Passugger Wasser.

Wie schon früher erwähnt, liegt der Verdacht nahe, es könnten Mikroben aus dem zur Reinigung der Flaschen verwendeten, nicht sterilisierten Sand die H_2S -Bildung hervorrufen.

Ich stellte deshalb folgende Versuche an:

1) Es wurden Platten gegossen mit $PbCO_3$ -Gelatine, die infiziert war mit Sand.

2) Es wurden mit Passugger Wasser gefüllte Flaschen mit diesem Sand geimpft und verschlossen aufbewahrt.

Die Bleikarbonatplatten zeigten verschiedene Arten, worunter schwefelwasserstoffbildende, und eine verflüssigende, fluoreszierende Art, ähnlich dem *Bac. fluorescens liquefaciens*, der wie dieser H_2S produziert aus Pepton, nicht aber aus Sulfat. Die mit Sand versetzten Flaschen zeigten, nach ungefähr 3 Monaten aufgemacht, keinen Schwefelwasserstoff.

Es war mir somit nicht geglückt, die Schwefelwasserstoffbildung auf den Sand zurückzuführen. Dessenungeachtet könnte dieser doch gelegentlich die Ursache derselben sein.

Da alle aus dem Passugger Wasser gezüchteten Bakterien, welche auf von mir bisher angewendeten Nährböden Schwefelwasserstoff erzeugt hatten, bei ihrer Wiedereinimpfung in Passugger Wasser in diesem selbst einen Einfluß auf die Schwefelwasserstoffbildung nicht zeigten, lag die Vermutung nahe, daß diese überhaupt nicht fähig waren, aus Sulfaten Schwefelwasserstoff zu erzeugen. Ich verwendete daher bei den nächsten Versuchen einen Nährboden, der dem Passugger Wasser ähnlicher war und keine andere Schwefelquelle, namentlich auch keine organische Substanz enthielt.

Derselbe war zusammengesetzt aus:

500 ccm destilliertes Wasser
2,3 g entwässertes Na_2CO_3
0,250 g $CaCO_3$
0,08 g K_2CO_3

0,03 g FeSO_4
 0,005 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

Mit diesem Nährboden stellte ich folgende Versuche an:

100 ccm versetzte ich mit 10 ccm nach Schwefelwasserstoff riechendem Passugger Wasser,

50 ccm mit ungefähr dem gleichen Volumen schwefelwasserstofffreien Passugger Wassers,

100 ccm impfte ich mit einer Aufschwemmung des erwähnten schwefelwasserstoffproduzierenden Bacillus, den ich auf peptonhaltigem Nährboden aus Passugger Wasser gezüchtet hatte.

Unter Abkühlen in Eis leitete ich Kohlensäure ein, damit die Bedingungen möglichst denjenigen in Passugger Wasser entsprachen.

Die Resultate waren negativ; es entwickelte sich in keiner der Flaschen Schwefelwasserstoff.

Ich änderte nun diesen Nährboden so um, daß ich statt Ammonsulfat eine schwefelfreie Stickstoffquelle nahm und dem Schwefel als Natriumsulfat zusetzte:

100 Wasser	1 Na_2SO_4
10 Gelatine	0,5 NaCl
1 Asparagin	PbCO_3

Auf diesen Nährboden säte ich die aus Passugger Wasser gezüchteten H_2S produzierenden Bakterien aus; ferner versetzte ich denselben mit H_2S -freiem und nach H_2S riechendem Passugger Wasser. Es fand aber in allen Fällen ein sehr langsames Wachstum statt; schließlich verflüssigten die Originale, ohne durch Schwefel-eisen gebräunte Kolonien zu zeigen.

Es ist mir also nicht gelungen, aërob wachsende, sulfatreduzierende Organismen in Passugger Wasser nachzuweisen.

Bei den weiteren Versuchen fahndete ich nun unter Anwendung des mittlerweile von van Delden¹⁾ für ähnliche Zwecke angegebenen Sulfatnährbodens auf Mikroben des Passugger Wassers, die unter anaëroben Bedingungen H_2S produzieren.

Der Nährboden ist folgendermaßen zusammengesetzt:

Leitungswasser	100
K_2HPO_4	0,05
Natriumlaktat	0,5
Asparagin	0,1
MgSO_4	0,1
Ferrosulfat	Spur

Diesem Nährboden setzte ich zu:

1) H_2S -freies Passugger Wasser;

2) nach H_2S riechendes Passugger Wasser;

3) die früher aus Passugger Wasser unter aëroben Bedingungen isolierten H_2S produzierenden Arten in wässriger Aufschwemmung.

Auch mit diesem Nährboden bekam ich in der sub 3 genannten Versuchsanordnung keine Schwefelwasserstoffbildung. Die von

1) Beitrag zur Kenntnis der Sulfatreduktion durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. p. 81—113.)

mir isolierten, aërob wachsenden, H_2S produzierenden Arten sind also nicht im stande, weder aërob noch anaërob Sulfate zu reduzieren.

Positive Resultate erhielt ich in den sub 1 und 2 erwähnten Fällen. Ich verwendete für diese Versuche Flaschen, die mit Glasstöpseln verschlossen waren, um das umständliche und unsichere Sterilisieren der Korke zu umgehen. Ich füllte zu diesem Zweck diese ungefähr 100 ccm fassenden Flaschen, die vorher sterilisiert waren, bis zur Hälfte mit der Nährsubstanz von van Delden und zur anderen Hälfte mit H_2S -freiem, resp. H_2S -haltendem Passugger Wasser. Nach einem Monat, oft schon innerhalb kurzer Zeit, zeigte ein Teil der Flaschen einen flockigen, schwarzen Niederschlag von Schwefeleisen, während die meisten anderen Flaschen zwar Bakterienwachstum, nicht aber Schwefeleisenbildung zeigten.

Von 16 Flaschen mit H_2S -freiem Passugger Wasser zeigten 8, von 10 mit H_2S -haltigem 4 H_2S -Reaktion. Ich bemerke hierzu, daß ich für jede der 26 Flaschen Wasser aus verschiedenen Passugger Flaschen verwendete. Alle 26 Flaschen zeigten Bakterienwachstum, teilweise mit Hautbildung. Diese Haut bestand hauptsächlich aus Stäbchen, daneben wenige Spirillen und trat auch bei Flaschen auf, die keine H_2S -Reaktion zeigten.

Ferner legte ich hohe anaërobe Kulturen in Nährgelatine von Delden an mit:

- 1) 0,5 ccm H_2S -freiem Passugger Wasser;
- 2) Passugger Wasser, das mit flüssigem Nährstoff von Delden angereichert war und, durch Schwarzfärbung dokumentiert, sulfatreduzierende Organismen enthielt;

- 3) der Haut, die sich in verschiedenen Flaschen gebildet hatte.

Mit 2 und 3 bekam ich immer in der Tiefe Kolonien, die durch einen braunen Hof von FeS umgeben waren. Ich konnte übrigens auch im normalen Passugger Wasser (Versuch 1) oftmals ohne vorherige Anreicherung diese sulfatreduzierenden Organismen nachweisen.

Bei den hohen anaëroben Kulturen in van Delden-Gelatine fiel es mir auf, daß, bevor noch die anaëroben Sulfaterleger zur Entwicklung kamen, die Kultur von oben anfang, zu verflüssigen. Die Verflüssigung schritt cylindrisch weiter und verfärbte die obestehende Flüssigkeit. Von dieser verflüssigenden Art legte ich Platten an, die alsbald eine Reinkultur zeigten von einem verflüssigenden, gelbgrünlich fluoreszierenden Bacillus. Ich fand diese Art nicht identisch, aber sehr ähnlich dem *B. fluorescens liquefaciens*; Milch koaguliert sie nicht. Ein mikroskopisches Präparat von den später auftretenden braunen, anaëroben, kugelförmigen Kolonien zeigte, daß auch hier keine Reinkultur vorlag; das Präparat zeigte in der Hauptsache Stäbchen mit abgerundeten Enden, nebenbei ein Spirillum. Von diesen braunen Kolonien angelegte anaërobe Platten zeigten neben diesen die Gelatine verflüssigenden, fluoreszierenden Kolonien noch eine nicht verflüssigende, im jüngsten Stadium dem *B. coli* ähnliche Art. Später zeigten diese Kolonien ein üppigeres Wachstum als *B. coli commune*; auch das mikroskopische Bild derselben war ein

anderes. Sie bildet in Trauben- und Milchzuckeragar reichlich Gas, gibt keine Indolreaktion und koaguliert die Milch nicht.

Da es mir auf andere Weise nicht gelungen war, Reinkulturen dieser anaëroben Spirillen zu bekommen, versuchte ich, durch Ausheben von Stellen der aëroben Platten, wo kein Wachstum zu sehen, war und durch Uebertragung solcher auf van Deldensche Nährgelatine die anaëroben sulfatreduzierenden Keime in Reinkultur zu erhalten. Ich gelangte aber auch damit nicht zum Ziele, da die Kulturen kein Wachstum zeigten. Waren vielleicht die Keime nach so langer Berührung mit der Luft nicht mehr lebensfähig oder die Stellen, wovon ich geimpft hatte, wirklich steril?

Auch meine Versuche, durch Zusatz von Natriumsulfit oder Schwefelwasserstoff (nach van Delden) oder ammoniumsaurem Natron die fakultativ Anaërobionten zurückzudrängen, mißlangen. Ein geringer Zusatz von diesen Substanzen wirkte nicht verzögernd auf das Wachstum der Verunreinigung; erhöhte ich den Zusatz, dann gelangte ich bald zu der Konzentration, wobei nicht allein das Wachstum der Bacillen, sondern auch das der Spirillen ganz zurückblieb.

Bei längerer Ueberzüchtung in künstlichen Nährböden scheint dieser sulfatreduzierende Organismus nach und nach von seinem stetigen Begleiter zurückgedrängt zu werden. Auch konnte ich durch Uebertragen von den schwarzen Kolonien in Passugger Wasser oder Nährsubstrat nach van Delden unter keinen Umständen H_2S -Bildung hervorbringen; die Organismen gingen unter diesen Bedingungen alle zu Grunde.

Trotz aller Versuche ist es mir also nicht gelungen, die Sulfatzerleger in Reinkultur zu züchten. Das ständige Auftreten der erwähnten *Microspira*-Formen in den durch Schwefeleisen gebräunten Kolonien läßt vermuten, daß wir hier eine sulfatreduzierende, anaërob wachsende *Microspira*-Art vor uns haben; ob sie aber identisch ist mit der von Beijerinck isolierten *Microspira desulfuricans*, konnte nicht nachgewiesen werden.

Leider mußte ich die sehr zeitraubenden Versuche hier abbrechen, ohne daß es mir gelungen wäre, die H_2S -Bildung im Passugger Wasser mit Bestimmtheit auf gewisse Mikroben zurückzuführen. Es ist namentlich nicht aufgeklärt, warum auch nicht nach H_2S riechendes Passugger Wasser, mit der van Deldenschen Nährboden versetzt, Schwarzfärbung, also H_2S -Bildung, zeigte, und zwar mindestens so häufig wie solches, das zu Beginn des Versuches deutlichen Geruch nach H_2S aufwies. Ebenso wenig ist klar, warum normales (kein H_2S -haltiges) Wasser in aërober Kultur ebenfalls schwarze Kolonien bildet.

Daß bei der H_2S -Bildung Mikroorganismen im Spiele seien, ist indeß mehr als wahrscheinlich, umsomehr, als es mir gelang, sulfatreduzierende Bakterien nachzuweisen. Vielleicht sind aber außer diesen noch ein oder mehrere andere mir vor der Hand unbekannte Faktoren nötig, um die genannte Erscheinung auszulösen.

Der positiv ausgefallene Versuch mit nicht sterilisiertem Stroh dürfte vielleicht auf die rechte Fährte führen.

Nachdruck verboten.

An investigation of some Iowa sewage disposal systems.

By **L. H. Pammel** and **J. B. Weems**¹⁾, Ames, Iowa, U. S. A.

With 4 figures.

Owing to the topography of Iowa and the absence of any very large streams except the Mississippi and Missouri which occur on the eastern and western border of Iowa respectively, the disposal of sewage for many of the Iowa cities must be accomplished not by means of flowing streams but by some sewage disposal system which will purify the sewage. Several of the interior cities are able to discharge their sewage into perennial streams like the Des Moines, Iowa and Cedar Rivers. While there would probably be little danger of the Des Moines sewage contaminating distant cities like Ottumwa, Keokuk, Quincy, and St. Louis, the many small cities along the stream are utilizing the water of the stream or will do so in the near future. It is imperative for the health of our own cities where sewage pollutes the stream to supply an adequate system of purifying the sewage so that the health of the community is not impaired. Several Iowa municipalities have had suits brought against them because of the discharge of sewage into running streams. I refer particularly to Marshalltown, where the Supreme Court of the state has held that the City of Marshalltown had no right to discharge its sewage into the Iowa river and jeopardize the citizens further down the river.

The need of some sewage disposal system for our rapidly growing cities in the state is recognized on every hand. As yet, however, few plants have been put in operation. The oldest plant in the state, The Iowa State College Sewage Disposal System has given most satisfactory results.

At three of the other state institutions namely, the Insane Hospital at Mt. Pleasant, the Soldier's Orphan's Home, Davenport, and the Girls Industrial School at Mitchellville, sewage disposal plants have been in operation. In addition to these a plant is in operation at Marion, Grinnell, and Spirit Lake. The plants at Davenport, Mitchellville, and Mt. Pleasant were put in by the Cameron Septic Tank Co. of Chicago. The construction of these in brief is as follows: Prof. Marston²⁾ who has made an investigation from an engineering standpoint describes them as follows in a recent paper.

„They are all strictly along the wellknown lines of the English septic tank installations. The tanks are built and arched over with concrete, covered with earth and provided with grit chambers and slotted pipes for effluent and sludge removal. Cinder contact beds enclosed in concrete are used for filtration. Single contact is used. The regular Cameron Automatic alternating gear is employed, in which the flow and distribution of sewage are controlled by valves actuated by tilting buckets.“

1) Centr. Bot. Dept. Journ. State Coll. Agrl. and Mech. Arts. 27.

2) Proc. Soc. of Western Engineers.

The sewage of all three places is extremely heavy. The effluent discharge varies, being heavier and darker with a full flow than the drippings. The contact beds are sufficiently moist at all times to permit the growth of algae. At the mouth of the effluent the rocks were covered with a species of *Oscillaria*, while the coal cinders on the top of the filter bed had a growth of *Cladophora*.

The Mt. Pleasant plant.

The water from the Mt. Pleasant Hospital is supplied by wells. It is stored in a tank and distributed to the different wards and la-

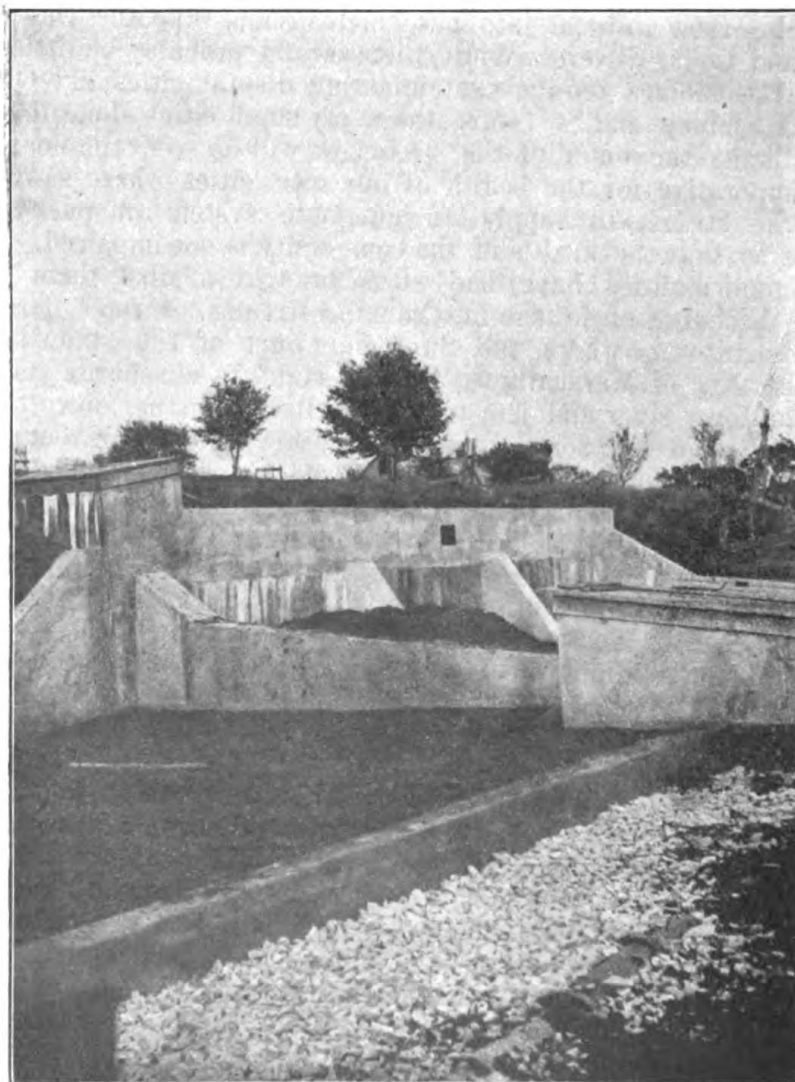


Fig. 1. The sewage disposal plant at Mt. Pleasant, Iowa. The contact bed with coal cinders, in part being replaced with crushed limestones shown in the lower right hand portion of the contact bed. The cover of the septic tank near the middle of the plant. The rectangular grit chamber made of concrete.

boratory. The laboratory tap water contained from 1830 to 2150 germs per cc.

The temperature of the air at 4:30 A. M. was 10° C.: at 9:30 A. M. it was 12° C.

Mt. Pleasant. — Hospital for Insane. Population about 1065. Contract capacity, 70 000 gallons per day. Also guaranteed for sewage of 1250 people and all the domestic animals of the institution. Grit chamber 3 ft. by 8 ft. by 2 ft. 6 in. deep below the water line. Septic tank 78 ft. by 14 ft. by 7 ft. 6 in. deep below the spring line. The capacity is about 61 000 gallons. Effluent chamber 2 ft. by 5 ft. by 5 ft. deep below the water line. Four contact beds each 38 ft. by 24 ft. containing 4 ft. of cinders. Rate of filtration 836 000 gallons per acre per day for 70 000 gallons of sewage. Contract price \$ 7250. The author measured one actual day's flow of sewage, Aug. 22, 1901, to be 75 000 gallons."

Bacteriological analyses of Mt. Pleasant sewage. Oct. 1903.

	Time	Raw sewage	Temp. °C	Septic tank	Temp. °C	Effluent	Temp. °C	Remarks
Oct. 21	4:30 p. m.	18 900 000		3 500 000		2 500 000		full flow
" "	5:30 "	1 400 000		700 000		2 500 000		
" "	6:30 "	6 300 000		1 015 000		1 500 000		
" "	7:30 "	11 900 000	32°	100 000	30°	500 000	28°	
" "	8:30 "	8 550 000		2 100 000		50 000		
" "	9:30 "	7 750 000		5 600 000		1 300 000		
" "	10:30 "	3 650 000		100 000		50 000		
" "	11:30 "	14 700 000		875 000		175 000		
" "	12:30 a. m.	49 000 000		10 850 000		7 000 000		full flow
" 22	1:30 "	24 000 000		6 875 000		2 500 000		
" "	2:30 "			770 000		550 000		
" "	3:30 "	4 900 000		1 505 000		1 000 000		full flow
		turbid and solid						
" "	4:30 "	10 000 000	20°	4 900 000	19°	1 500 000	18°	
" "	5:30 "	9 800 000		215 000		60 000		
" "	6:30 "	9 800 000		180 000		175 000		
" "	7:30 "	3 500 000		250 000		225 000		
" "	8:30 "					100 000		
" "	9:30 "	2 530 000	25°	750 000	24°	437 000	20°	
" "	10:30 "	8 500 000		1 750 000		1 400 000		
				blackish				
" "	11:30 "	3 500 000		150 000		50 000		
" "	12:30 p. m.	350 000	32°	735 000	30°	540 000	30°	
" "	1:30 "	5 000 000		3 500 000		3 150 000		
" "	2:30 "	2 000 000	28°	3 500 000	27°	2 100 000	25°	
" "	3:30 "	5 600 000		525 000		1 100 000		
" "	4:30 "	7 000 000	30°	4 500 000	26°	2 850 000	25°	
Total of 23 hrs.		174 530 000		54 175 000		32 662 000		
Average		7 589 000		2 355 000		1 421 000		

Chemical composition of Mt. Pleasant sewage.

Results in parts per million.

	Sept. 4, 1903			Oct. 24, 1903		
	Raw Sewage	Tank	Effluent	Raw Sewage	Tank	Effluent
Free ammonia	30,0	23,5	25,5	30,0	40,0	35,0
Albuminoid ammonia	15,0	16,0	12,0	12,5	17,5	3,0
Chlorine	116,0	110,0	80,0	156,0	146,0	146,0
Solids on evaporation	2996,0	2340,0	2690,0	3212,0	2266,0	2198,0
Solids at 180° C.	2544,0	2270,0	2608,0	2986,0	2200,0	2102,0
Solids on ignition	2022,0	1820,0	2292,0	2462,0	1980,0	1976,0
Nitrites	none	none	0,32	none	none	none
Nitrates	none	none	none	none	none	none
Oxygen consumed						
Three minutes	4,30	6,30	0,7	5,3	115,5	3,7
Fifteen minutes	9,4	14,4	2,4	19,32	115,58	11,84
Four hours	17,0	27,0	4,8	46,88	151,74	25,14
Association method	25,6	33,8	10,8	54,2	156,6	38,2

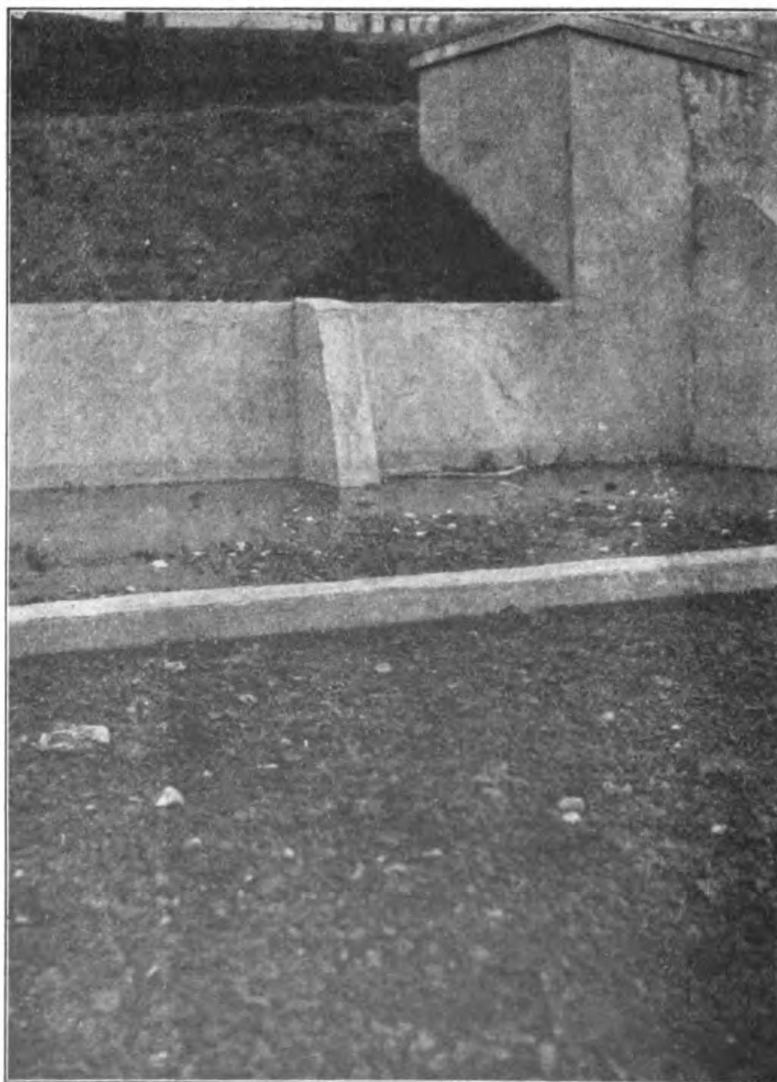


Fig. 2. A partial view of the two contact beds of the sewage disposal plant at the Soldiers' Orphans' Home, Davenport, Iowa. The upper bed about ready to discharge. These contact beds made of coal cinders.

Davenport. — Soldiers' Orphan's Home. Population about 485. Contract capacity 25 000 gallons daily. Also guaranteed for sewage of 800 people and all the domestic animals of the institution. Grit chamber 2 ft. 6 in. by 5 ft. by 2 ft. 6 in. deep below the water line. Septic tank 50 ft. by 10 ft. by 6 ft. below the spring line. The capacity is about 22 500 gallons. Effluent chamber 2 ft. by 5 ft. by 3 ft. below the water line. Four contact beds, each 24 ft. by 13 ft. 6 in. containing 4 feet of cinders. Rate of filtration 839 000 gallons per acre per day for 25 000 gallons of sewage.

Soldiers Orphans Home.
Davenport. Laundry sewage. Oct. 1903.

		Raw sewage	Septic tank	Effluent	
Oct.	8 a. m.	Unsuccessful	8 350 000	1 400 000	
"	9 " "	1 470 000	1 750 000	1 250 000	
"	10 " "	1 260 000	6 300 000	5 600 000	
"	11 " "	5 600 000	4 310 000	3 150 000	
"	12 " "	15 750 000	4 410 000		
"	1 p. m.	6 300 000	14 400 000	7 560 000	
"	2 " "	2 520 000	17 000 000	2 250 000	
		3 430 000	8 752 000	3 962 000	Average of 5 hrs.
Total of 5 hrs.		17 150 000	43 760 000	19 810 000	

Bacteriological analyses of sewage, Davenport, Ia., Oct. 1903.

Date	Time	Raw sewage	Temp. °C	Septic tank	Temp. °C	Effluent	Temp. °C
Oct.	Noon	3 000 000		80 000		25 000	
"	1 p. m.	2 500 000 cloudy and flocculent		310 000	20°	215 000	19°
"	2 " "	43 750 000 cloudy		55 000			
"	3 " "	7 000 000		700 000			
"	4 " "	1 625 000		210 000			
"	5 " "	3 000 000	20 1/2°	750 000	21 1/2°		18°
"	6 " "	3 275 000	26 1/8°	1 750 000	23°	168 000	20°
"	7 " "	980 000	23°	910 000	21°	385 000	18°
"	8 " "	1 050 000	19°	280 000	18°	192 500	15°
"	9 " "	2 100 000					
"	10 " "	5 000 000 clear		300 000		140 000	
"	11 " "	9 750 000	17°	120 000	17°	135 000	15°
"	Midnight	15 050 000		700 000			
"	1 a. m.	1 000 000	18°	355 000	17°	227 500	15°
"	2 " "	5 000 000		550 000		280 000	
"	3 " "	3 500 000	17°	595 000	18°	168 000	15°
"	4 " "	3 150 000		280 000			
"	5 " "	1 330 000	18°		19°	140 500	15°
"	6 " "	1 220 000		3 275 000		126 000	
"	7 " "	3 500 000	20°	1 575 000	21°	1 400 000	15 1/2°
"	8 " "	7 000 000		1 680 000		105 000	
"	9 " "	2 793 000	20°	700 000	21°	630 000	17°
"	10 " "	4 200 000		1 750 000		1 500 000	
"	11 " "	7 700 000		1 663 000		2 000 000	
Total of 17 hrs.		62 848 000		15 890 000		7 637 500	
Average		3 696 900		934 700		449 000	

The analyses of the sewage gave the following results:
Chemical analyses of Davenport sewage.

Results in parts per million.

	Sept. 4. 1903			Oct. 24. 1903		
	Raw Sewage	Tank	Effluent	Raw Sewage	Tank	Effluent
Free ammonia	52,5	55,5	32,5	26,0	33,0	16,0
Albuminoid ammonia	15,0	20,0	8,5	17,5	7,5	20,0
Chlorine	30,0	30,0	30,0	20,0	34,0	16,0
Solids on evaporation	740,0	590,0	562,0	1656,0	594,0	608,0
Solids at 180° C	424,0	458,0	502,0	1370,0	524,0	556,0
Solids on ignition	244,0	254,0	356,0	586,0	312,0	436,0
Nitrites	none	none	0,04	none	none	none
Nitrates	none	none	none	none	none	none
Oxygen consumed:						
Three minutes	5,7	10,3	0,7	10,9	9,5	5,5
Fifteen minutes	15,8	14,2	4,1	35,7	17,7	12,3
Four hours	30,2	34,4	8,0	91,2	34,7	34,5
Association method	41,8	37,4	18,6	96,9	46,2	36,4



Fig. 3. The discharge from the effluent at the Soldiers' Orphans' Home in Davenport, Iowa. Nearly all the water has been discharged.

Mitchellville. — Industrial School for Girls. Population about 200. Contract capacity 12 500 gallons daily. Also guaranteed for sewage of 400 people and all the domestic animals of the institution. Grit chamber, 2 ft. 6 in. by 4 ft. by 2 ft. by 6 ft. deep below the water line. Septic tank 36 ft. 6 in. by 8 ft. by 6 ft. deep below the spring line. The capacity is about 13 000 gallons. Effluent chamber, 2 ft. by 5 ft. by 3 ft. deep below the water line. Three contact beds each 15 ft. by 11 ft. containing 4 ft. of cinders. Rate of filtration, 1 100 000 gallons per acre per day for 12 500 gallons of sewage. Contract price \$ 2625. The Superintendent of the School states that the actual flow of sewage is 5000 gallons per day and that this is some times increased by rain water to considerably beyond the 12 500 gallons per day.



Fig. 4. A full discharge of the effluent at the sewage disposal plant at Mt. Pleasant, Iowa, at the beginning of the discharge.

Zweite Abt. Bd. XIII.

Bacteriological analyses of Mitchellville sewage and effluent.
Nov. 27—28, 1903.

Date	Hour	Raw sewage	Septic tank	Effluent
Nov. 27	10 a. m.	120 000	110 000	120 000
"	11 " "	210 000	80 000	410 000
"	12 noon	860 000	60 000	10 000
"	1 p. m.	30 000	40 000	260 000
"	2 " "	3 500 000	100 000	100 000
"	3 " "	560 000	90 000	80 000
"	4 " "	80 000	70 000	1 300 000
"	5 " "	3 500 000	170 000	50 000
"	6 " "	Overgrown	1 000 000	20 000
"	7 " "	460 000	90 000	200 000
"	8 " "	Overgrown	260 000	60 000
"	9 " "	330 000	30 000	Overgrown
"	10 " "	800 000	160 000	110 000
"	11 " "	260 000	270 000	100 000
"	12 Midnight	7 000 000	100 000	340 000
Nov. 28	1 a. m.	590 000	20 000	5 040 000
"	2 " "	1 000 000	150 000	240 000
"	3 " "	170 000	260 000	310 000
"	4 " "	1 370 000	160 000	150 000
"	5 " "	200 000	130 000	160 000
"	6 " "	510 000	8 400 000	280 000
"	7 " "	280 000	20 000	60 000
"	8 " "	280 000	1 500 000	520 000
"	9 " "	290 000	100 000	1 400 000
Average of 24 hrs.		1 018 000	551 000	297 000

Chemical composition of Mitchellville sewage.

	Results in parts per million.						
	Dec. 17, 1902.			Sept. 17, 1903.			Dec. 8, 1903.
	Effluent	Manhole	Tank	Effluent	Manhole	Tank	Effluent
Free ammonia	23,0	162,0	50	50,5	185,0	136,0	96,0
Albuminoid ammonia	3,5	22,0	4	2,5	32,5	13,5	8,5
Chlorine	80,0	162,0	96	92,0	180,0	184,0	176,0
Solids on evaporation	1742,0	3370,0	2536	3240,0	3834,0	1782,0	1716,0
Solids at 180° C	1700,0	3188,0	2338	3090,0	3658,0	1734,0	1650,0
Solids on ignition	1594,0	1984,0	1342	1930,0	1844,0	1382,0	1470,0
Nitrites	0,8	none	none	none	none	none	none
Nitrites	4,0	none	none	none	none	none	none
Oxygen consumed							
Three minutes	1,72	83,6	130	49,6	115,6	62,6	12,6
Fifteen minutes	2,38	94,2	130	50,0	186,0	65,6	21,6
For hors	4,27	145,4	153	86,6	244,4	122,0	35,2
Association method	9,4	185,6	168	91,2	329,6	152,0	57,6

From the chemical analyses it will be noticed that the presence of nitrogen as nitrates and nitrates is only shown in three of the seven samples of effluent. Nitrification appears to be limited to a small extent as is shown from the results of the seven samples of effluent analysed. The effluent found containing nitrates is shown only in one sample and here the amount is very limited.

This fact is of interest when a comparison is made with the

results from the Iowa State College plant ¹⁾ where the effluent contained as high as 26 parts per million of nitrogen as nitrates. If the standard recommended for effluents by the Mersey and Irwell Joint Committee be applied to these effluents the result is of interest. The standard requires that the effluent shall not consume over 14.3 parts per million of oxygen and that the albuminoid ammonia present is not to exceed 1.43 parts per million.

The results shown that three samples of the seven meet the requirements of the standard for the oxygen absorption and all of the effluents exceed in albuminoid ammonia the 1.43 parts per million as limited by the standard.

The methods of analysis used were those in general practice and with the exception of the oxygen absorption need no explanation.

The oxygen absorption was determined under four conditions. The three minute test, the fifteen minute test and the four test. These tests were made at a temperature of 80° F. The association method is the method recommended by the A. A. A. S. and in general use in this country.

The object of the first three determinations may be explained in the following statement of F. Scudder before the Society of Chemical Industry ²⁾.

Chemical results.

The object of using these various time tests is to differentiate the quality of the organic matter and in order to make the point clear, he (Mr. Scudder) divided the quality of the organic matter in the Safford effluents into three divisions as follows:

I. "The three minute test showed the putrid matter decomposing permanganate at once with acid. Angus Smith said that this test measured the organic matter decomposed or putrid or at least certain gases which it left behind capable of decomposing permanganate."

II. "The fifteen minute test, that is fifteen minutes less the three minute test equals a twelve minute test, showed matter readily putrefying and rapidly decomposing permanganate with acid. Angus Smith classed this as organic matter readily decomposed and probably ready to become putrid."

III. "The four hour test minus the 15 minute and minus the 3 minute test which equals a 225 minute test for the action of the permanganate, showed matter capable of putrefying, although slow to decompose."

It is a matter of interest in connection with the three minute test that in addition to the organic matter decomposed, nitrites and ferrous iron or hydrogen sulphide if present react upon the permanganate.

1) Chemical composition of sewage of the Iowa State College sewage plant. (Proceedings Iowa Academy of Science. IX. p. 70—80.)

2) Report of streams examination, chemic and bacteriologic. (Pub. by authority of the trustees of the sanitary district of Chicago.)

The explanation of the object of the time tests shows that the results indicate to a certain extent the condition of a part of the organic matter present in the sewage, but these tests do not indicate the action on the entire quantity of organic matter which may be present in the sewage and not in a decomposing state. In order to obtain a result which will indicate the action of the permanganate on the organic matter that is not in a more or less decomposing state a method must be used where the conditions are more favorable for the oxidizing agent, and for this reason the association method is used to complete the series of determinations.

Bacteriological results.

The results of the bacteriological investigations show the following elimination.

(Number of bacteria per c. c. and elimination.)

Raw sewage Bacteria	Total elimination	Septic tank Bacteria	Elimination	Effluent	Elimination
174 530 000	87 %	54 175 000	67,90 %	32 662 000	19,04 %

The raw sewage contained a great deal of solid matter. This was especially true for the samples taken at 1:30, 4:30, 7:30, 11:30 p. m. and 12:30, 4:30, 5:30, 10:30 a. m. The highest number of germs found in the septic tank occurred at 1:30, 2:30, 4:30, 9:30 p. m., 12:30, 1:30, 4:30, a. m. The high numbers at the later hours is no doubt due to the collection of sewage with a smaller flow of water. The table shows the effluent contained as many bacteria as occur in raw sewage of many cities. At 1:30 the effluent had 3 150 000; 4:30 p. m., 2 500 000; at 12:30 a. m., 7 000 000. These large numbers occurring at a full flow. Prof. Burrill and Dr. Jordan report the number of bacteria at several Illinois stations as follows:

	Lockport, Ill. and M. Canal	Joliet	Wesley City	Pekin
August	3 215 000	3 220 000	2 355 000	1 928 000
September	669 600	217 000	484 500	391 250
October	1 359 375	1 145 000	2 373 750	1 047 500
November	582 000	1 023 000	705 000	812 000
December	746 250	1 026 250	20 600	69 000

"The numbers are all very large. The variation usually is not more than is ordinarily anticipated, except those for December at Wesley and at Pekin. These, compared with the others given and with those usual for these stations, are very exceptional and must have some special explanation. Upon the latter, however, it is idle to speculate. Let it be remembered that there is no connection between the first two sets of figures and the last two sets, for Joliet and Wesley City are separated by a long line of the waterway, from which the samples show very low counts."

We will add to these a few tables from different cities to show the bacteria in sewage water.

Munich ¹⁾, near the entrance of the principal sewer 227 368.

Berlin ²⁾ (Frank), the river below Berlin contained in October 767 000, in September 2 520 000.

Zurich ³⁾ (Schlatter), found that in the river Limmat after the addition of the sewage contained in February 788 700. In January, this was from the middle current 448 940.

The Franklands report that they found sewage to contain as many as 25 000 000 bacteria per c. c.

The investigations of the Mitchellville plant were made some time after the other two plants had been investigated. There was some odor of hydrogen sulphide in samples from the effluent and the effluent was usually blackish, the material of the septic tank was much paler. It was noticeable that *Bacillus prodigiosus* appeared in one of the plates in considerable quantity. The number of bacteria in raw sewage was considerably less than in the sewage from Mt. Pleasant and Davenport. It travels a somewhat longer distance. The cold weather no doubt somewhat retarded bacterial action hence less elimination. The effluent empties into a small creek which in turn empties into a large creek. The following table shows the number of bacteria in the creek above and below, and one fourth mile below. Medium used Glucose agar.

Place	Date	Bacteria per cc.
	March 25, 1904	
Creek, just above effluent		{ 66 500 water turbid 51 000 after a freshet
Creek, just below effluent		{ 11 300 46 000

No particular effort was made to determine the species. The following species were recognized, *Sarcina lutea*, *S. aurantiaca*, *Bacillus liquefaciens fluorescens* and *B. coli communis*. In some plates certain species predominated. At 10:30 a. m. raw sewage contained 1 005 000 *Sarcina lutea*; at 6:30 a. m. there were 40 000 *S. aurantiaca*; at 4:30 p. m. 5 250 000; at 1:30 a. m. 2 800 000 of the 6 875 000 organism a were anaërobes.

The raw sewage was invariably turbid, the septic tank material was somewhat lighter with a perceptible odor of hydrogen sulphide gas. The effluent was blackish with a strong odor of hydrogen sulphide. This odor was so strong that it could be detected for some distance away from the sewage disposal plant.

The Davenport plant was apparently in much better condition than the Mt. Pleasant. The surface of the cinders were covered with *Cladophora* and *Conferva*; some *Oscillaria* also occurred on the material surrounding the effluent. The effluent was blackish, but clearer than the Mt. Pleasant, with finely suspended black material.

1) Prausnitz, Der Einfluß der Münchener Kanalisation auf die Isar. München 1889.

2) Franklands, Mikroorganisms in water 1892.

3) Franklands, Mikroorganisms in water 1896.

Hydrogen sulphide was given off though not as much as in the Mt. Pleasant plant. Some of the same gas was also observed in the septic tank. The raw sewage contained but little gas. On the whole the odor in the vicinity of the plant was not nearly so objectionable as the odor from the Mt. Pleasant plant. The Superintendent of the plant, Mr. Goss, said they found considerable difficulty with the laundry sewage. The first table gives the results of a twenty-four hour run. The second a run containing laundry sewage.

The effectiveness of the plants in the disposal of sewage.

It will appear from the results of the bacteriological investigations that the elimination is not nearly so effective as it should be. The following table shows the effectiveness of elimination from a bacteriological and chemical standpoint.

Plant	Date	Per cent Bacteria eliminated		Albuminoid ammonia	Free ammonia	Oxygen consumed
		Tank experiment	Filter experiment			
Davenport	Oct. 23—24	75,5	87,8	T	T	T
				57,1	—27,0	61,9
				E	E	E
Mitchellville Chemical Analysis Sept. 12th.	Nov. 27—28	45,8	70,8	14,3	38,5	62,1
				T	T	T
				81,8	69,1	—5,2
Mt. Pleasant	Oct. 22—23	75,5	87,8	E	E	E
				—14,3	38,5	62,1
				T	T	T
				—6,6	21,7	58,8
				E	E	E
				20,0	15,0	71,8

These plants may be compared with the elimination of bacteria as it appears in the Iowa State College plant, which has now been in operation since 1898. The following is a table for the College.

Date	Bacteria per cc.		Albuminoid free ammonia		Oxygen consumed
	Tank effluent	Filter effluent	ammonia	ammonia	
Jan. 8—March 28, 1901	65,2	99,2	Tank effluent		66,3
			59,0	27,6	
			Filter effluent		96,0
			94,2	84,7	
Apr. 4—June 13, 1901	35,5	99,2	Tank effluent		57,3
			11,9	7,9	
			Filter effluent		94,4
			93,4	85,2	
June 20—Aug. 15, 1901	10,4	98,2	Tank effluent		43,4
			71,5	36,0	
			Filter effluent		94,6
			97,0	96,7	
Aug. 22—Oct. 2, 1902	27,5	99,8	Tank effluent		72,9
			5,7	14,4	
			Filter effluent		99,8
			98,0	95,7	

In the prosecution of this work the following dilutions were employed: For the Mitchellville raw sewage, septic tank and effluent, 10000. For the Davenport and Mt. Pleasant systems, the dilution for septic tank and raw sewage was 50000, for the effluent, 10000.

It will be seen from the results obtained that the effluent contained an enormous number of bacteria, running up in many cases to hundreds of thousands, in some cases over a million. In some cases there is an increase in the number of bacteria found in the effluent. Rideal¹⁾ calls attention to the increase found by Chorley for the Royal Commission.

Our thanks are due to Miss Edna King and Messrs. R. E. Buchanan and B. G. Budge for assistance.

Nachdruck verboten.

Ueber die Bakterien im Kuheuter und ihre Verteilung in den verschiedenen Partien des Melkens.

Von Dr. Ed. von Freudenreich,

Vorsteher des bakteriologischen Laboratoriums der schweizerischen landwirtsch. Versuchs- und Untersuchungsanstalten.

(Schluß.)

Es wäre möglich, daß Coli- und Aërogenes-Bakterien, die wie die Streptokokken Euterentzündungen hervorbringen können, nach überstandener Krankheit im Euter weiterleben; in solchen Fällen könnte die frisch gemolkene Milch also wirklich Coli- oder Aërogenes-Bakterien enthalten. Ob etwas Derartiges den positiven Resultaten von Backhaus und Lux zu Grunde lag, mag dahingestellt bleiben.

Bacterium aërogenes fand ich nur einmal in geringer Anzahl in der Milch von Zitze 3 der Kuh Taube im 3. Versuch. Zu bemerken ist indessen, daß die Zitze schmutzig war und nur abgewischt worden war; auch wurde dieses Bakterium auf sein Gärvermögen leider nicht untersucht; möglicherweise wurde es irrthümlicherweise als B. aërogenes angesehen, da, wie wir gleich sehen werden, hier und da Aërogenes- und Coli-ähnliche Bakterien angetroffen wurden, die sich von Bacterium aërogenes und Bacillus coli dadurch unterschieden, daß sie Milchzucker nicht vergärten. Solche Aërogenes-ähnliche Bakterien fand ich z. B. bei Kuh Freude im 3. Versuch, und bei Kuh Rubi, 3. Versuchsreihe, Versuch 3, Zitze 4. Freude lieferte auch aus Zitze 4 im gleichen 3. Versuche den M. lactis amari, aber nur in einer Agarröhre.

Bei Kuh Liebe gab im 3. Versuche die Platte von Zitze 3 verflüssigende Kokken, vermischt mit einem dicken, nicht verflüssigenden Bacillus, der nicht näher untersucht wurde. Derselbe fand sich nicht mehr wieder.

1) Rideal, Sewage. 57.

3mal wurde je 1 Kolonie von *B. subtilis* angetroffen (Schöne, Versuch 6, Zitze 2; Linke, 3. Versuchsreihe, Versuch 3, Zitze 4, Mitte und Ende), 1mal zeigte die Platte 6 *Subtilis*-Kolonieen (Linke, 3. Versuchsreihe, Versuch 3, Zitze 3). Eine *B. mycoïdes*-Kolonie fand man 1mal (Linke, 3. Versuchsreihe, Versuch 5). Auch eine Kolonie des *B. radiciformis* wurde bei Kuh Jungferli (12. Versuchsreihe) gefunden.

Proteus-Kolonieen fanden sich 4mal vor: bei Kuh Rubi, Versuch 3, Zitze 1 und 2, je 1 Kolonie, bei Kuh Storch, Zitze 4, bei Kuh Zwerg, Zitze 4, bei Kuh Fink, Zitze 3, je 1 Kolonie und bei Kuh Blume, Zitze 1, 2 Kolonieen.

In der 3. Versuchsreihe (Fütterungsversuche) gab Kuh Linke in den Versuchen 2 und 3 aus den Zitzen 2 und 3 ein paar *Coli*-ähnliche Kolonieen, die jedoch aus Kokken bestanden. Die gleiche Kuh gab in Versuch 2 aus den Zitzen 3 und 4 ein paar andere *Coli*-ähnliche Kolonieen, diesesmal aus einem Bakterium bestehend, welches Milchzucker nicht vergor. Die Zitze 3 gab ebenfalls im Versuch 2 eine *Aërogenes*-ähnliche Kolonie, die aber aus Kokken bestand. Diese Beispiele zeigen, wie sehr man sich in acht nehmen muß, denn wenn eine nähere Untersuchung dieser Kolonieen unterlassen worden wäre, so hätte man sie leicht als *Coli*- oder *Aërogenes*-Kolonieen zählen können. Auch die Kuh Rubi gab in den Versuchen 2 und 3 ein paar der *coli*-ähnlichen Kokkenkolonieen, sowie einmal einige Hefekolonieen und einmal eine *Aërogenes*-ähnliche Kolonie, welche aber aus einem nicht gasbildenden Bakterium bestand. Da in diesen Versuchen *B. prodigiosus* verfüttert worden war, scheint das vereinzelte Auftreten dieser in den früheren Versuchen nicht vorgekommenen Mikroorganismen mit der Fütterung nichts zu tun zu haben. Ueberhaupt sind mit Ausnahme der Kokken, des nichtverflüssigenden Bakteriums und bei einzelnen Kühen des *B. lactis acidii* und der Streptokokken alle zuletzt erwähnten Bakterien so seltene Erscheinungen gewesen, daß ich sie eher als zufällige Beimischungen ansehen möchte.

In der erwähnten 3. Versuchsreihe wurden *Prodigiosus*-Kulturen und Schlempe an zwei Kühe, Linke und Rubi, verfüttert. Bei der *Prodigiosus*-Fütterung erhielten sie an 3 Tagen, am 6., 7. und 8. Januar, Bouillonkulturen (am 1. Tage 50, dann 100 ccm), die ihnen direkt in den Schlund eingegossen wurden. Am 7., 8. und 9. wurde die Milch aller Zitzen untersucht. Am 9. wurde die Milch jeder Zitze nur in der Mitte des Gemelkes genommen; ich habe deswegen diesen Versuch nicht in die Tabelle aufgenommen, das Resultat war indessen ganz das gleiche: nie traten in der Milch *Prodigiosus*-Bacillen auf. Die Schlempefütterung dauerte vom 16.—28. Januar. Am Ende war die Schlempe sehr sauer geworden. Die Milch wurde am 22. und 28. Januar untersucht. Die Gelatineplatten, die zweimal mit der Schlempe angelegt wurden, gaben Hefe, *Oidium*, *Proteus*, gasbildende Bacillen und Streptokokken; keiner dieser Mikroorganismen wurde in der Milch wiedergefunden.

Folgende Tabelle gibt die Mittelzahlen vor und während dieser Fütterungsversuche:

	Vorher	Prodigosus-Fütterung	Schlempefütterung
Linke	2265	3094	1680
Rubi	491	504	897

Die Unterschiede sind nach meiner Ansicht so gering, daß von einem Einfluß der Fütterung auf die Keimzahl in diesem Falle kaum die Rede sein kann.

Aus den Angaben, die Lux über den Einfluß von Heu- und Grasfütterung macht, läßt sich entnehmen, daß die Resultate zum Teil widersprechend waren. Während nämlich bei Kühen die Grasfütterung zu einer Vermehrung der Keime führte (919 gegen 671), war bei Ziegen bei Grünfütter im Gegenteil eine Abnahme zu bemerken (249 gegen 416). Da er jedoch in seinen Versuchen das Euter gar nicht reinigte, so mögen die von ihm bei Grasfütterung erhaltenen höheren Bakterienzahlen auf die Beschmutzung des Euters zurückzuführen sein, die bekanntlich durch die Grasfütterung bedeutend begünstigt wird. In meiner ersten Versuchsreihe waren die Kühe bei den 2 ersten Versuchen mit Heu gefüttert, der 3. Versuch wurde bei Grasfütterung vorgenommen. In der folgenden Tabelle habe ich die durchschnittliche Keimzahl bei Heu- und Grasfütterung für die einzelnen Versuchskühe per Kubikcentimeter wiedergegeben:

	Heufütterung	Grasfütterung
Kuh Blume	339	641
„ Taube	46	252
„ Schöne	1000	503
„ Falbe	42	932
„ Kreuz	673	581
„ Rote	3009	750
„ Liebe	499	1211
„ Freude	24	843
„ Gemse	510	840
„ Rubi	505	1031

Als Mittelzahlen haben wir bei Heufütterung 664 und bei Grasfütterung 758 Bakterien per Kubikcentimeter. Der Unterschied ist zu klein, um der Fütterung hier einen nennenswerten Einfluß zuschreiben zu dürfen. Zwar treten, wenn man die Resultate der einzelnen Kühe sich ansieht, oft bedeutende Unterschiede auf, so bei Taube, Falbe, Liebe, Freude, Rote; meist war in diesen Fällen gerade die Anfangsportion sehr bakterienreich, was mit der Fütterung kaum in Zusammenhang zu bringen ist.

Die vierte Versuchsreihe zeigt die Resultate der Versuche bei Trockenmelken; ich führte sie deswegen aus, weil ich befürchtete, daß bei nassem Melken manchmal die flüssige Schmiere, welche die Finger des Melkers bedeckt, die Milch beschmutzen könnte. In dieser Versuchsreihe freilich trat nie eine plötzliche Keimvermehrung am Ende des Melkens auf, wie sie zuweilen in der ersten Versuchsreihe konstatiert werden kann; dieses bestärkt mich in der bereits erwähnten Annahme, daß in solchen Fällen eine zufällige Verunreinigung im angedeuteten Sinne wahrscheinlich ist.

Was läßt sich nun aus den mitgeteilten Resultaten bezüglich

der Invasionspforte der Bakterien des Euters schließen? Gelangen dieselben in das Euter durch den Zitzenkanal, also infolge aufsteigender Infektion, oder auf dem Blutwege? Letztere Hypothese scheinen Lux, Uhlmann und Steiger zu befürworten. Die Möglichkeit einer solchen ist zwar nicht von der Hand zu weisen. Wie erwähnt, hat Ford gezeigt, daß bei Meerschweinchen, Kaninchen, Hunden und Katzen die inneren Organe sehr oft bakterienhaltig sind. Harrison hat Ähnliches nachgewiesen, und auch ich habe gezeigt, daß bei Kühen Niere und Milz nicht bakterienfrei sind. In neuester Zeit hat Rzegocinski¹⁾ gefunden, daß bei Meerschweinchen, Kaninchen, Hunden und Fröschen auch das Knochenmark Bakterien enthalten kann (28 Proz. der Fälle); ja, es ist ihm gelungen, nach Verfütterung bekannter Bakterienarten, wie z. B. *prodigosus*, *B. fluorescens liquefaciens* u. s. w., dieselben im Knochenmark wiederzufinden, jedoch nur in 5 Proz. der Fälle. Daß also unter Umständen die Darmwand für Bakterien passierbar ist, scheint außer Zweifel gesetzt zu sein. Sie können daher, einmal in die Blutbahn gelangt, auch das Euter invadieren. Jedoch dürften dieses nach den Resultaten meiner eigenen Fütterungsversuche relativ seltene Fälle sein. Bei Streptokokkeninvasion des Euters der Kuh Zwerg wird jedenfalls die Blutbahn die Infektion vermittelt haben, es ist aber nicht zu vergessen, daß es sich hier um ein krankes, mit starkem Fieber behaftetes Tier handelte.

Auf der anderen Seite jedoch sehen wir, daß, was die Verteilung der Bakterien auf die verschiedenen Portionen des Gemelkes betrifft, die ersten Strahlen in der Mehrheit der Fälle am bakterienreichsten sind, und in Uebereinstimmung damit zeigen Uhlmanns Resultate, daß im Zitzenkanal immer Bakterien, und zwar oft in erheblicher Zahl, vorhanden sind. Auch wenn die ersten Strahlen ganz bedeutende Mengen Bakterien enthalten, folgt gewöhnlich eine starke Herabsetzung ihrer Zahl. Eine Ausnahme finden wir nur bei Infektion des Euters mit *B. lactis acidii*, in welchem Falle die Endpartieen ebenso bakterienreich sein können. Dies scheint doch für eine aufsteigende Infektion und für eine von außen vor sich gehende Besiedelung der Wandungen des Zitzenkanals zu sprechen. Denn erfolgte die Invasion vom Darne aus, so müßte man schon in den oberen Partieen des Euters oft bedeutende Bakterienansammlungen vorfinden; daß dieses der Fall sei, glaubt auch Lux, wie bereits erwähnt wurde, indem er annimmt, daß im Geäste der Milchgänge bakterienfreie und bakterienreiche Bezirke miteinander wechseln. Wenn ich jedoch meine Protokolle über meine Untersuchungen des Kuheuters durchsehe, so muß ich sagen, daß mir dieses nicht sehr wahrscheinlich erscheint. Die Gewebstückchen, welche zur Einsaat verwendet wurden, waren verschiedenen Stellen des Euters entnommen, und doch gab das Resultat der Kulturen den Eindruck, daß die Bakterien ziemlich gleich verteilt waren; sehr große Schwankungen sieht man nicht und die Unter-

1) Recherches bactériologiques sur la moëlle des animaux à l'état normal. (Arch. polon. d. sc. biol. et méd. T. II. 1903; Ref. in Bull. de l'Inst. Pasteur. T. II. p. 102.)

schiede lassen sich ganz gut aus der Ungleichheit der entnommenen Stücke erklären. Auch wäre es unerklärlich, wenn wirklich vom Darm aus unablässig Bakterien auf hämatogenem Wege das Euter invadieren sollten, daß die einzelnen Viertel in Beziehung auf ihren Bakteriengehalt oft sehr verschieden sich verhalten, was sich dagegen bei der Annahme einer aufsteigenden Invasion sehr gut erklären läßt, da die einzelnen Zitzenkanäle mehr oder weniger gut schließen können. So sagt z. B. auch Freeman¹⁾, daß bei schlaffer Muskulatur der Zitzen die Invasion des Euters durch Bakterien viel ausgesprochener ist. Erfolgte die Invasion in der Regel vom Darmkanal aus, so wäre auch zu erwarten, daß die im Darm und Labmagen²⁾ so zahlreichen Coli-Bacillen und Anaëroben öfter erscheinen würden; dieses ist aber nach meinen Untersuchungen nicht der Fall. Steiger hat zwar gefunden, daß im Panseninhalt die gleichen Kokkenarten sich vorfinden wie in der Milch und sieht darin eine Stütze für die Theorie der hämatogenen Infektion; aber ganz die gleichen Kokken hat Barthel³⁾ in der Stallluft gefunden, so daß ein gleiches Argument zu Gunsten der aufsteigenden Infektion geltend gemacht werden kann. Steiger stützt sich ferner auf seine negativen Resultate bei Berührung der Zitzenöffnung mit virulenten Mastitisbakterien, aber demgegenüber stehen die positiven Kitts entgegen, dem es gelang, durch Einreibung von Bakterienkulturen an die Zitzenöffnung Mastitis zu erzeugen, ein Beweis, daß der Zitzenkanal für Bakterien passierbar ist.

Auf der einen Seite haben wir also die Darmwand, die zwar kein unüberwindliches Hindernis ist, aber doch im allgemeinen die Bakterien zurückzuhalten scheint, auf der anderen Seite die Zitzenöffnung mit dem Zitzenkanal, der stets Bakterien enthält, also weit entfernt ist, eine verschlossene Tür zu sein. Somit scheint mir das Wahrscheinlichere, daß die Invasion gewöhnlich von außen durch den Zitzenkanal erfolgt.

Ein Punkt jedoch ist noch der Erklärung bedürftig. Warum findet man in der dem Euter direkt entnommenen Milch so wenige Bakterienarten, während doch die Zitzen mit den verschiedensten Bakterien in Berührung kommen? Die gleiche Frage hätte, nebenbei gesagt, auch die Theorie der hämatogenen Infektion zu beantworten, da, wie bereits erwähnt, im Darm allerlei Bakterien anzutreffen sind, die in der Milch nicht vorkommen. Ich denke, man muß annehmen, daß gleich im Anfang diejenigen Bakterien im Zitzenkanal und im Euter sich ansiedeln, welche dort am besten gedeihen; vielleicht auch sind es solche Bakterien, welche den von mehreren Forschern außer Zweifel gestellten bakteriziden Eigenschaften der Milch am besten widerstehen. Haben sie sich einmal dort angesiedelt, so verlegen sie dann den anderen Bakterien den Weg. Vorläufig sehe ich keine andere Erklärung und ich hoffe später einmal dieser Frage nähertreten zu können.

1) Zitiert von Ward in seiner angeführten Arbeit.

2) Ueber die Bakterien des Labmagens erscheint später eine Arbeit von J. Thöni.

3) *Recherches sur les microorganismes de l'air des étables etc.* (Revue générale du lait. T. I. p. 505.)

Erste Versuchsreihe¹⁾.
1. Kuh Blume.

Bakterienzahl per Kubikcentimeter und Arten derselben in

Versuch 1 (Heufütterung) 16. April 1903		Versuch 2 (Heufütterung) 4. Mai 1903		Versuch 3 (Grasfütterung) 22. Mai 1903 ²⁾	
Gelatine	Agar	Gelatine	Agar	Gelatine	Agar
Zitze 1 { Anfang Mitte Ende	20 n. verfl. Kok.	60 verfl. Kok.	40 verfl. u. n. verfl. Kok.	0	100 n. verfl. Bakt. u. verfl. Kok. und Streptokokken
	0	20 "	120 n. verfl. Kok.	0	120 n. verfl. Bakt. u. 2 Proteus-Kolonien
	1500 "	580 verfl. u. n. verfl. Kok.	40 "	0	0
Zitze 2 { Anfang Mitte Ende	20 n. verfl. Kok.	2200 n. verfl. Kok.	3360 n. verfl. Kok.	ca. 3—4000 n. verfl. Kok.	5600 n. verfl. Kok. nicht zählbare verfl. u. n. verfl. Kok.
	20 "	100 "	40 "	300 n. verfl. Kok.	200 n. verfl. u. verfl. Kok.
	380 "	540 "	180 "	440 "	510 n. verfl. Kok. 530 verfl. u. n. verfl. Kok.
Zitze 3 { Anfang Mitte Ende	0	0	820 n. verfl. Kok	560 verfl. Kok. (sehr schlecht in Gel. gewachsen)	360 verfl. Kok.
	20 n. verfl. Kok.	60 n. verfl. Kok.	20 "	40 langsam. verfl. Kok.	220 "
	20 "	180 "	60 "	40 langsam. weiter verfl. Kok.	300 "
Zitze 4 { Anfang Mitte Ende	0	20 n. verfl. Kok.	1000 verfl. Kok.	1000 verfl. Kok.	30 n. verfl. Bakt. 30 verfl. Kok.
	240 n. verfl. Bakt.	0	60 n. verfl. Kok.	300 "	150 "
	20 verfl. Kok.	140 "	160 verfl. u. n. verfl. Kok.	260 "	0

- 1) Abkürzungen: n. verfl. Kok. = nicht verflüssigende Kokken; n. verfl. Bakt. = nicht verflüssigendes Bakterium.
2) In Versuch 3 waren die Zitzen 1, 2 und 3 schmutzig; sie wurden vor dem Melken abgewischt.

2. Kuh Taube.

Bakterienzahl per Kubikcentimeter und Arten derselben in							
Versuch 1 (Heufütterung) 17. April 1903			Versuch 2 (Heufütterung) 11. Mai 1903		Versuch 3 ¹⁾ (Grasfütterung) 29. Mai 1903		
Gelatine			Gelatine		Gelatine		
Agar			Agar		Agar		
Zitze 1	(Anfang	40 n. verfl. Kok.	20 verfl. Kok.	100 n. verfl. Kok.	0	1230 verfl. Kok. u. n. verfl. Bakt.	70 verfl. Kok.
	Mitte	100 n. verfl. Kok. u. Bakt.	20 Kok.	80 " " "	0	30 $\frac{2}{3}$ verfl. Kok., $\frac{1}{3}$ n. verfl. Bakt.	0
	Ende	20 n. verfl. Kok.	0	0	0	0	0
Zitze 2	(Anfang	40 n. verfl. Kok.	1100 verfl. Kok. (in Gel. schlecht wachsend)	60 sehr langsam verfl. Kok.	80 verfl. u. n. verfl. Kok.	40 verfl. Kok.	50 verfl. Kok.
	Mitte	20 verfl. Kok.	20 verfl. Kok.	0	0	60 " " verfl. Kok., $\frac{2}{3}$ n. verfl. Bakt.	40 " "
	Ende	20 n. verfl. Kok.	200 verfl. Kok. u. Streptokokken	0	60 sehr langsam verfl. Kok.	60 $\frac{2}{3}$ verfl. Kok., $\frac{1}{3}$ n. verfl. Bakt.	20 " "
Zitze 3	(Anfang	40 n. verfl. Kok.	20 n. verfl. Kok.	140 n. verfl. Kok.	60 Streptokokken	1500 verfl. Kok., n. verfl. Bakt. u. B. aerogenes	0
	Mitte	80 verfl. u. n. verfl. Kok.	0	0	20 n. verfl. Kok.	30 n. verfl. Kok.	0
	Ende	60 n. verfl. Kok.	20 verfl. Kok.	20 " " "	0	0	0
Zitze 4	(Anfang	0	0	180 n. verfl. Kok.	40 verfl. Kok.	0	0
	Mitte	20 n. verfl. Kok.	20 verfl. Kok.	0	0	80 $\frac{1}{2}$ verfl. Kok., $\frac{1}{2}$ n. v. Bakt.	30 n. verfl. Kok.
	Ende	20 " " "	20 " " "	80 " " "	100 n. verfl. Kok.	0	0

1) In Versuch 3 waren die Zitzen 1, 2 und 3 schmutzig; sie wurden vor dem Melken abgewischt.

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Digitized by Google

3. Kuh Schöne (Fortsetzung).

Bakterienzahl per Kubikcentimeter und Arten derselben.				
	Versuch 4 ¹⁾ (6. August 1903)	Versuch 5 (7. August 1903)	Versuch 6 ²⁾ (26. Oktober 1903)	
Zitze 1	170 verfl. u. n. verfl. Kok.	350 verfl. u. n. verfl. Kok.	100 verfl. Kok.	
	160 " " " "	280 " " " "	20 " " "	
	0 " " " "	80 " " " "	0 " " "	
	230 " " " "	160 " " " "	30 " " "	
Zitze 2	1500 B. lactis ac.	320 B. lactis ac.	2570 B. lactis ac.	
	4300 " " "	7600 " " "	4650 " " "	u. einige Kok.
	7060 " " "	4170 " " "	4600 " " "	einige Kokken
	15000 " " "	1950 " " "	2260 " " "	und 1 Subtilis-Kolonie u. Kok.
Zitze 3	90 n. verfl. Kok.	220 verfl. u. n. verfl. Kok.	16800 fast nur B. lactis ac. (250 verfl. Kok.)	
	0 " " "	930 " " " "	1940 B. lactis ac. u. 10 Kok.	
	20 " " "	360 " " " "	610 alles B. lactis ac., mit Ausnahme von 30 verfl. Kok.	
	40 " " "	400 " " " "	2910 alles B. lactis ac., mit Ausnahme von 30 verfl. Kok.	
Zitze 4	1170 B. lactis ac.	580 B. lactis ac.	über 15000 B. lactis ac.	
	3800 " " "	6300 " " "	" 20000 " " "	
	11400 " " "	6500 " " "	" 18000 " " "	(1 Kok. Kol. = 10 per Kubikcm.)
	22000 " " "	1220 " " "	10000 " " "	und einige verfl. Kok.

1) In Versuch 4 wurde das Euter mit Seife gewaschen und vor jeder Milchentnahme wurde die Zitze mit einem weichen Tuche abgewischt.

2) In Versuch 6 wurde trocken gemolken.

4. Kuh Falbe.

Bakterienzahl per Kubikcentimeter und Arten derselben in

		Versuch 1 (Heufütterung) 20. April 1903		Versuch 2 (Heufütterung) 1. Mai 1903		Versuch 3 (Grasfütterung) 19. Mai 1903	
		Gelatine	Agar	Gelatine	Agar	Gelatine	Agar
Zitze 1	Anfang	20 n. verfl. Bakt.	100 verfl. Kok.	0	0	0	0
	Mitte	0	0	0	0	50 $\frac{1}{5}$ n. verfl. Kok.	30 verfl. Kok.
	Ende	0	0	0	0	40 n. verfl. Bakt.	0
Gibt keine Milch							
Zitze 2	Anfang						
	Mitte						
	Ende						
Zitze 3	Anfang	120 n. verfl. Kok.	80 verfl. Kok. u. <i>B. lactis</i> ac. je die Hälfte	100 n. verfl. Kok.	320 verfl. Kok.	350 verfl. u. n. verfl. Kok. u. n. verfl. Bakt.	0
	Mitte	0	20 verfl. Kok.	0	0	7-8000 verfl. Kok. 320 Kok. (nurnah an der Oberfläche gewachsen)	
	Ende	0	0	180 n. verfl. Kok.	120 meist verfl. Kok.	870 verfl. Kok. u. n. verfl. Bakt.	0
Zitze 4	Anfang	0	0	260 n. verfl. Kok.	80 verfl. Kok.	20 n. verfl. Kok.	0
	Mitte	40 n. verfl. Kok.	40 n. verfl. Kok.	0	0	30 verfl. u. n. verfl. Kok.	0
	Ende	0	0	40 verfl. und n. verfl. Kok.	0	30 n. verfl. Kok.	0

5. Kuh Kreuz.

Bakterienzahl per Kubikcentimeter und Arten derselben in					
	Versuch 1 ¹⁾ (Heufütterung) 21. April 1903		Versuch 2 (Heufütterung) 7. Mai 1903		Versuch 3 ²⁾ (Grasfütterung) 26. Juni 1903
	Gelatine	Agar	Gelatine	Agar	Gelatine
Zitze 1 { Anfang Mitte Ende	unzählbar (Kok. u. Bakt.)	1740 n. verfl. Kok. ca. 2000 langsam verfl. Kok.	1020 verfl. Kok.	nicht zählbar	2730 verfl. Kok.
	380 " " "	1100 desgl.	40 n. verfl. Kok.	900 in Gel. langsam wachsende verfl. Kok.	70 " "
	20 n. verfl. Kok.	180 n. verfl. Kok.	100 " "	620 desgl.	90 " "
Zitze 2 { Anfang Mitte Ende	340 " " Bakt.	0	0	60 n. verfl. Kok.	280 ein nicht verfl. Bacillus
	40 " " Kok.	0	6 n. verfl. Kok.	0	0
				0	150 besonders n. verfl. Kok. auch einige v. Kok.
Zitze 3 { Anfang Mitte Ende	100 n. verfl. Kok.	nicht zählbar (Kok. in Gel. n. wachsend)	0	nicht zählbar, Kok. in Gel. n. wachsen	2810 verfl. Kok.
	100 " " "	1200 sehr langsam verfl. Kok.	0	240 Kok., in Gel. sehr langsam gewachs., verfl.	50 n. verfl. Kok.
	240 " " "	500 desgl.	0	320 desgl.	10 " "
Zitze 4 { Anfang Mitte Ende	11 000 verfl. Kok.	nicht zählbar (verfl. Kok.)	0	220 in Gel. sehr langsam wachsende verfl. Kok.	600 verfl. Kok.
	20 n. verfl. Kok.	420 langsam verfl. Kok.	20 n. verfl. Kok.	820 desgl.	40 n. verfl. Bakt.
	60 desgl. u. n. verfl. Bakt.	200 desgl.	300 " "	nicht zählbar	150 verfl. Kok. u. n. verfl. Bakt.

1) In Versuch 1 waren die Zitzen 1 und 2 schmutzig.

2) In Versuch 3 waren alle Zitzen etwas schmutzig. Sie wurden bloß abgewischt.

6. Kuh Rote.

Bakterienzahl per Kubikcentimeter und Arten derselben in

Versuch 1 (Heufütterung) 22. April 1903		Versuch 2 (Heufütterung) 30. April 1903		Versuch 3 (Grasfütterung) 19. Mai 1903	
Gelatine	Agar	Gelatine	Agar	Gelatine	Agar
Zitze 1 { Anfang Mitte Ende	0 40 n. verfl. Kok. 60 " " "	0 20 n. verfl. Kok. 80 " " "	0 0 0	150 n. verfl. Kok. 70 " " " 10 " " "	0 0 0
	Anfang nicht zählbar, ca. 30—40000 n. verfl. Kok.	nicht zählbar	ca. 32000 n. verfl. Kok.	nicht zählbar, Kok. 8000 n. verfl. Kok.	nicht zählbar
Zitze 2 { Mitte Ende	1300 n. verfl. Kok. 700 " " "	600—800 n. verfl. Kok. ca. 600 desgl.	3400 n. verfl. Kok. 1500 " " "	ca. 3000 n. verfl. Kok. 1000 n. verfl. Kok.	380 " " 220 " " "
	Anfang nicht zählbar verfl. u. n. verfl. Kok.	nicht zählbar, Kok.	0	0	0
Zitze 3 ¹⁾ { Mitte Ende	0 60 n. verfl. Kok.	0 0	0 0	70 ⁶ / ₇ n. verfl. Kok., 1 ¹ / ₇ verfl. Kok.	0 0
	Anfang nicht zählbar verfl. u. n. verfl. Kok.	nicht zählbar, Kok.	0	20 n. verfl. Kok.	0
Zitze 4 ²⁾ { Anfang Mitte Ende	120 n. verfl. Kok. 0 0	0 0 20 n. verfl. Kok.	0 20 n. verfl. Kok. 80 verfl. Kok. 180 " " 20 " "	0 70 n. verfl. Kok. 0	0 50 n. verfl. Kok. 0

- 1) Zitze 3 war in Versuch 1 schmutzig.
2) Zitze 4 war in Versuch 1 schmutzig.

7. Kuh Liebe.

Bakterienzahl per Kubikcentimeter und Arten derselben in							
Versuch 1 (Heufütterung) 23. April 1903				Versuch 2 (Heufütterung) 8. Mai 1903		Versuch 3 (Grasfütterung) 5. Juni 1903	
	Gelatine		Agar	Gelatine	Agar	Gelatine	Agar
Zitze 1	(Anfang	60 n. verfl. Kok.	nicht gut zählbar, ca. 1200 verfl. Kok. u. in Gelatine fast nicht wachsende, n. verfl. Kok.	0	nicht gut zählbar, verfl. Kok.	0	nicht zählbar, verfl. Kok.
	Mitte	2400 " "	700 n. verfl. Kok., in Gelatine schlecht wachsende, langsam verfl. Kok.	0	140 desgl.	0	90 langsam verfl. Kok.
	Ende	120 " "	100 langsam verfl. Kok.	0	100 desgl.	0	130 verfl. Kok.
Zitze 2	(Anfang	20 n. verfl. Kok.	0	0	20 n. verfl. Kok.	0	0
	Mitte	0	0	0	0	0	0
	Ende	0	0	0	0	0	0
Zitze 3	(Anfang	3060 verfl. u. nicht verfl. Kok.	nicht zählbar	0	0	nicht gut zählbar, ca. 14 000 470 n. verfl. Kok.	nicht zählbar, lang- sam verfl. Kok. 710 langsam verfl. Kok.
	Mitte	400 desgl.	60 verfl. Kok.	20 verfl. Kok.	240 verfl. Kok.	70 verfl. Kok. u. ein nicht näher unters. Bac.	0
	Ende	40 n. verfl. Kok.	0	0	220 langsam verfl. Kok.	0	0
Zitze 4	(Anfang	0	0	5800 n. verfl. Kok.	nicht zählbar, verfl. Kok.	0	0
	Mitte	0	0	0	0	0	0
	Ende	60 n. verfl. Kok.	60 B. lactis ac.	0	0	0	0

27*

Versuch 1 (Heufütterung) 23. April 1903			Versuch 2 (beginnende Gras- fütterung) 12. Mai 1903			Versuch 3 (Grasfütterung) 4. Juni 1903		
	Gelatine	Agar		Gelatine	Agar		Gelatine	Agar
Zitze 1 {	Anfang	20 n. verfl. Kok.	0	0	0	260 verfl. u. n. verfl. Kok.	160 verfl. u. n. verfl. Kok.	
	Mitte	0	0	80 verfl. u. n. verfl. Kok.	0	310 fast alles n. verfl. Kok. Auch ein Aërogenes-ähn. Bac., jedoch kein Gas bildend	140 verfl. Kok.	
	Ende	20 n. verfl. Kok.	0	0	0	100 verfl. u. n. verfl. Kok.	60 " "	
Zitze 2 {	Anfang	20 n. verfl. Kok.	0	0	0	7000 verfl. Kok. u. einige Kol. nicht gut zählbar des Bac. von Zitze 1		
	Mitte	0	0	0	0	210 verfl. u. n. verfl. Kok.	10 verfl. Kok.	
	Ende	20 n. verfl. Kok.	0	0	0	50 n. verfl. Kok.	50 n. verfl. Kok.	
Zitze 3 {	Anfang	140 n. verfl. Kok.	0	40 verfl. Kok.	0	0	0	
	Mitte	80 " "	0	0	0	30 ein dicker n. verfl. Bac.	0	
	Ende	20 " "	0	0	0	310 verfl. Kok. u. einige Aërog.-ähn. Bac (kein Gas bilden)	110 verfl. Kok.	
Zitze 4 {	Anfang	10 n. verfl. Kok.	0	0	0	110 Aërog.-ähn. Bac., jedoch kein Gas bildend	0	
	Mitte	60 " "	0	0	0	1040 verfl. u. n. verfl. Kok. Auch der Aërog.-ähn. Bac.	400 verfl. Kok.	
	Ende	60 " "	0	0	0	700 verfl. u. n. verfl. Kok.	480 verfl. Kok. u. <i>M. lactic amari</i>	

9. Kuh Gemse.

Bakterienzahl per Kubikcentimeter und Arten derselben in							
Versuch 1 (Heufütterung) 24. April 1903				Versuch 2 (Heufütterung) 12. Mai 1903		Versuch 3 (Heufütterung) 4. Juni 1903	
		Gelatine	Agar	Gelatine	Agar	Gelatine	Agar
Zitze 1	Anfang	80 n. verfl. Kok.	20 Kok.	240 n. verfl. u. verfl. Kok.	0	240 n. verfl. und verfl. Kok.	40 verfl. Kok.
	Mitte	20 " "	20 n. verfl. Kok.	0	0	250 n. verfl. Kok.	40 " "
	Ende	0	0	0	0	70 verfl. Kok.	70 " "
Zitze 2	Anfang	20 n. verfl. Kok.	Nicht gut zählbare Kok.	0	0	0	0
	Mitte	320 " "	200 verfl. u. nicht verfl. Kok.	0	0	10 n. verfl. Kok.	0
	Ende	20 langsam verfl. Kok.	1120 Kok., in Gelatine kaum wachsend	0	0	30 " "	20 Streptokok.
Zitze 3	Anfang	5600 n. verfl. Kok.	Nicht zählbare Kok.	5600 n. verfl. Kok.	Nicht zählbare Kok.	7300 n. verfl. Kok.	Nicht zählbar
	Mitte	40 " "	Röhre verunglückt	0	20 n. verfl. Kok.	440 verfl. u. nicht verfl. Kok.	420 verfl. und nicht verfl. Kok.
	Ende	80 " "	440 Kok., in Gelatine kaum wachsend	0	0	610 verfl. u. nicht verfl. Kok.	650 verfl. und nicht verfl. Kok.
Zitze 4	Anfang	60 verfl. und n. verfl. Kok.	40 langsam verfl. Kok.	0	0	0	50 verfl. Kok.
	Mitte	260 n. verfl. Kok.	40 verfl. Kok.	0	0	600 verfl. u. nicht verfl. Kok.	110 verfl. u. nicht verfl. Kok.
	Ende	0	0	0	0	540 verfl. u. nicht verfl. Kok.	180 verfl. u. nicht verfl. Kok.

Versuch 3¹⁾ (Heufütterung)
26. Mai 1903

1) In Versuch 3 war die Zitze 4 schmutzig; vor dem Melken abgewischt.

Zweite Versuchsreihe.

Bakterienzahl per Kubikcentimeter und Arten derselben		
	2. Kuh Pfau (10. November 1903)	1. Kuh Jungferli (6. November 1903)
Zitze 1	Anfang 4 120 verfl. Kok.	Ueber 30 000 verfl. Kok.
	Mitte 3 300 „ „	590 verfl. Kok. u. einige n. verfl. Kok.
	Ende 640 „ „	1 790 verfl. Kok. u. einige n. verfl. Kok.
Zitze 2	Anfang 12 000 v. Kok. u. Streptokok.	17 600 verfl. Kok.
	Mitte 1 940 „ „ „ „	770 „ „
	Ende 460 „ „ „ „	40 „ „
Zitze 3	Anfang 3 450 v. Kok. u. Streptokok.	4 150 verfl. u. n. verfl. Kok.
	Mitte 4 360 „ „ „ „	1 780 „ „ „ „ u. „ n.
	Ende 230 verfl. Kok. „	280 verfl. Kok. u. „ n. verfl. Bakt.
Zitze 4	Anfang 2 280 verfl. Kok.	30 n. verfl. Kok. u. n. verfl. Bakt.
	Mitte 320 „ „	40 n. verfl. Bakt.
	Ende 850 „ „	0

Bakterienzahl per Kubikcentimeter und Arten derselben		
	3. Kuh Storch (11. November 1903)	4. Kuh Bräutli (11. November 1903)
Zitze 1	Anfang Mindestens 50—60 000 Streptokokken	1020 verfl. Kok.
	Mitte 3 500 Streptokokken	50 „ „
	Ende 1 200 Streptokokken und 1 Paar verfl. Kok.	1250 „ „
Zitze 2	Anfang 50—60 000 Streptokokken	Ueber 10 000 verfl. u. n. verfl. Kok.
	Mitte 4 080 „ „	1200 verfl. Kok.
	Ende 2 710 Streptokokken und 1 Paar verfl. Kok.	900 „ „
Zitze 3	Anfang Ueber 10 000 Streptokok.	Nicht zählbar, verfl. Kok.
	Mitte 21 000 Streptokokken	140 verfl. u. n. verfl. Kok.
	Ende 3 610 „ „	70 „ „ „ „ „
Zitze 4	Anfang Mindestens 120 000 Strepto- kokken	Ueber 10 000 verfl. Kok.
	Mitte Platte durch einen Proteus verflüssigt	1820 verfl. Kok.
	Ende 6 140 Streptokokken	460 „ „

Bakterienzahl per Kubikcentimeter und Arten derselben				
5. Kuh Zwerg				
	Versuch 1 (6. November 1903)	Versuch 2 ¹⁾ (19. November 1903)	Versuch 3 ²⁾ (9. Dezember 1903)	
Zitze 1	Anfang 2650 verfl. Kok. Mitte 540 " " Ende 40 " "	5060 verfl. Kok. 600 " " 40 " "	3 700 verfl. Kok. 40 " " 40 $\frac{3}{4}$ verfl. Kok., $\frac{1}{4}$ B. lact. acidi	
Zitze 2	Anfang Unzählbar, v. Kok. Mitte 3950 verfl. Kok. Ende 1320 " "	8900 verfl. Kok. 2860 " " 2180 " "	10 000 verfl. Kok. 3 530 " " 1 540 " "	
Zitze 3	Anfang 0 Mitte 90 verfl. Kok. Ende 140 " "	90 verfl. Kok. 1570 " " 30 " "	Unzählbar, Streptokok. 9 000 Streptokokken 0	
Zitze 4	Anfang Ueber 30 000 verfl. Kok. Mitte 4150 verfl. Kok. Ende 170 " "	9620 verfl. Kok. 1970 " " Platte, "durch einen Proteus verflüssigt	16 000 verfl. Kok. 6 000 " " 2 680 " "	

Bakterienzahl per Kubikcentimeter und Arten derselben				
6. Kuh Fink				
	Versuch 1 (10. November 1903)	Versuch 2 ³⁾ (19. November 1903)		
Zitze 1	Anfang Mindestens 18 000 verfl. Kok., auch einige n. verfl. Kok. Mitte 1 070 verfl. Kok. Ende 260 " "	8 000 verfl. Kok. 5 100 " " 800 " "		
Zitze 2	Anfang 34 000 Streptokokken und einige verfl. Kok. Mitte 3 340 desgl. Ende 1 110 desgl.	18 900 Streptokokken 2 250 " 1 510 "		
Zitze 3	Anfang 15 000 verfl. Kok. Mitte 250 " " Ende 680 " "	500 verfl. Kok. 4 980 " " Platte, durch einen Proteus verfl.		
Zitze 4	Anfang 20 000 verfl. Kok. Mitte 580 " " Ende 1 480 " "	11 000 verfl. Kok. 2 900 " " 2 430 " "		

1) Zitzen gewaschen und trocken gemolken.

2) Kuh krank seit einigen Tagen und am 10. Dezember gestorben.

3) Zitzen gewaschen und trocken gemolken.

Vierte Versuchsreihe.
Versuche mit Trockenmilchen.

Bakterienzahl per Kubikcentimeter und Arten derselben.						
	Kuh Blume 14. Oktober 1903	Kuh Schoene 26. Oktober 1903	Kuh Rote 2. Dez. 1903	Kuh Freude 3. Dez. 1903	Kuh Zwerg 19. Nov. 1903	Kuh Fink 19. Nov. 1903
Zitze 1	(Anfang	0	100 verfl. Kok.	920 verfl. u. einige n. verfl. Kok. u. n. verfl. Bakt.	350 verfl. Kok. u. n. verfl. Bakt.	5060 verfl. Kok.
	II. Portion	10 n. verfl. Kok.	20 "	90 verfl. Kok. u. n. verfl. Bakt.	220 verfl. und n. verfl. Kok.	600 "
	III. Portion (Ende	0	0	—	10 verfl. Kok.	40 "
Zitze 2	(Anfang	0	2 570 B. lactis acidi	240 verfl. Kok. u. einig. n. v. Kok.	—	—
	II. Portion	0	4 650 B. lactis ac. u. einige Kok.	8100 n. verfl. Kok. ¹⁾	640 verfl. Kok. u. n. verfl. Bakt.	8900 verfl. Kok.
	III. Portion	10 verfl. Kok.	4 600 B. lact. ac. dazu 1 Kok- u. 1 Subtilis-Kol.	1600 "	50 verfl. Kok.	2860 "
Zitze 3	(Anfang	0	2 260 B. lact. ac., dazu 1 Kokkenkol.	720 "	10 "	2180 "
	II. Portion	20 verfl. Kok.	16 800 B. lact. ac. und einige wenige Kok. (250 p. cem)	0	10 n. verfl. Bakt.	90 verfl. Kok.
	III. Portion	0	1 940 B. lact. ac. und 1 Kokkenkol.	40 n. verfl. Bakt.	250 verfl. und n. verfl. Kok.	1570 "
Zitze 4	(Anfang	0	610 alles B. lact. ac. mit Aus- nahme v. 30 Kok. p. cem	—	—	—
	II. Portion	0	2 910 B. lact. ac. u. 30 verfl. Kok. per cem	30 verfl. und n. verfl. Kok.	0	30 "
	III. Portion	0	Ueber 15 000 B. lact. ac.	20 Kok. (b. d. Un- ters. noch n. v.)	40 verfl. Kok.	9620 verfl. Kok.
Zitze 4	(Anfang	0	" 20 000 "	90 verfl. Kokk.	10 "	1970 "
	II. Portion	0	" 20 000 "	—	—	—
	III. Portion	20 n. verfl. Kok.	18 000 B. lact. ac. (nebst 1 Kokkenkol. = 10 p. cem)	100 "	Platte durch ein. Proteus verfl.	2 430 "
Zitze 4	(Anfang	0	ca. 10 000 B. lact. ac. u. einige verfl. Kok.	—	—	—
	II. Portion	0	" 20 000 "	—	—	—
	III. Portion	0	" 20 000 "	—	—	—

Dieser Micrococcus brachte die Milch zur Gerinnung ohne nachherige Auflösung und scheint mir mit einem früher im Käse gefundenen und Micrococcus a genannten Mikroorganismus identisch zu sein.

Bakterienzahl per Kubikcentimeter						
Kuh Linke						
		Versuch 1 30. Dez. 1903 Kontrolle	Versuch 2 7. Januar 1904 Prodigiousus- fütterung	Versuch 3 8. Januar 1904 Prodigiousus- fütterung	Versuch 4 22. Januar 1904 Schlempe- fütterung	Versuch 5 28. Januar 1904 Schlempe- fütterung
Zitze 1	Anfang	24 000 verfl. Kok.	50 n. verfl. Bakt.	ca. 70 000 verfl. Kok.	0	36 000 verfl. Kok.
	Mitte	0	90 n. verfl. Bakt. u. n. v. Kok. ³⁾	10 n. verfl. Kok.	0	1 400 „ „
	Ende	0	110 verfl. Kok.	10 „ „ „	20 nicht verfl. Kok.	650 „ „
Zitze 2	Anfang	2 570 verfl. und n. verfl. Kok. ¹⁾	600 n. verfl. Bakt.	0	110 verfl. Kok. u. n. verfl. Bakt.	0
	Mitte	20 n. verfl. Kok.	250 „ „ „	240 nicht verfl. Kok. ⁸⁾	10 nicht verfl. Kok.	10 verfl. Kok.
	Ende	0	60 n. verfl. u. verfl. Kok.	10 desgl.	10 nicht verfl. Bakt.	30 verfl. Kok. u. n. verfl. Bakt.
Zitze 3	Anfang	20 n. verfl. Bakt.	140 n. verfl. Bakt. u. v. Kok. ⁴⁾	60 n. verfl. Kok.	10 n. v. Bakt.	50 n. verfl. Bakt.
	Mitte	200 v. Kok. u. n. v. Bakt.	370 n. verfl. u. verfl. Kok. ⁵⁾	880 desgl. ⁶⁾	20 desgl.	100 verfl. Kok.
	Ende	370 verfl. und n. verfl. Kok. ⁷⁾	700 desgl. ⁶⁾	50 desgl.	160 verfl. u. n. verfl. Kok.	20 (1 Mycoi- des - Kol. u. 1 verfl. Kok.-Kol.)
Zitze 4	Anfang	0	180 n. verfl. Kok.	30 verfl. Kok.	20 verfl. u. n. verfl. Bakt.	0
	Mitte	70 n. verfl. Bakt.	80 verfl. u. n. verfl. Bakt.	260 nicht verfl. Kok. ¹⁰⁾	40 verfl. Kok.	140 n. v. Kok. u. n. verfl. Bakt. ¹²⁾
	Ende	30 desgl.	30 nicht verfl. Kok. ⁷⁾	40 verfl. Kok. ¹¹⁾	1540 verfl. Kok.	0

1) Unter den nicht verflüssigenden Kokkenkolonien einige noch nicht ange-
troffene Coli-ähnliche Kolonien, aber gleichfalls aus Kokken bestehend.

2) Auch ein paar dieser Coli-ähnlichen Kolonien.

3) Unter den letzteren eine Coli-ähnliche Kolonie, kleines Bacterium, das
indessen in Milchsüßwasserbouillon nicht wuchs.

4) Auch eine kleine Kolonie wie sub 3.

5) Auch eine B. aërogenes-ähnliche Kolonie, jedoch aus Kokken be-
stehend.

6) Auch einige der erwähnten Coli-ähnlichen Kolonien (Bacterium).

7) Auch eine der erwähnten Coli-ähnlichen Kolonien (Bacterium).

8) Auch ein paar der erwähnten Coli-ähnlichen Kokkenkolonien.

suchsreihe.

(Verfütterung von Prodigiosuskulturen und Schlempe.)

und Arten derselben.

Kuh Rubi (gibt nur aus 3 Zitzen Milch)

		Versuch 1 30. Dez. 1903 Kontrolle	Versuch 2 7. Januar 1904 Prodigosus- fütterung	Versuch 3 8. Januar 1904 Prodigosus- fütterung	Versuch 4 22. Januar 1904 Schlempe- fütterung	Versuch 5 28. Januar 1904 Schlempe- fütterung
Zitze 1	Anfang	0	260 nicht verfl. Bakt. ¹⁵⁾	340 nicht verfl. Kok.	0	15 000 verfl.Kok.
	Mitte	40 n.verfl.Kok.	600 n. verfl. u. verfl. Kok.	110 verfl. u. n. verfl. Kok.	20 n.verfl.Bakt.	140 verfl. u. n. verfl.Kok.
	Ende	4060 verfl. u. n. verfl. Kok. ¹⁾	500 verfl. u. n. verfl. Kok.	2120 n. verfl. u. v. Kok. ¹⁵⁾	190 n. verfl. u. verfl. Kok.	480 desgl. (4 Kol. da- von sind nicht die gewöhn- lichen)
Zitze 2	Anfang	0	60 verfl. Kok. u. n. verfl. Bakt.	0	230 verfl. u. n. verfl. Kok.	20 n. verfl. Kok.
	Mitte	0	10 nicht verfl. Kok.	10 nicht verfl. Kok.	10 n. verfl. Kok.	20 n. v. Kok. u. n. verfl. Bakt.
	Ende	70 verfl. u. n. verfl. Kok.	180 nicht verfl. Bakt. und verfl. Kok.	60 verfl. Kok. u. n. verfl. Bakt.	10 verfl. Kok.	30 n. verfl. Bakt.
Zitze 3	Anfang	Gibt keine Milch				
	Mitte					
	Ende					
Zitze 4	Anfang	10 n.verfl.Kok.	40 n.verfl.Kok.	2410 verfl. u. n. v. Kok. ¹⁶⁾	0	0
	Mitte	270 „ „ „	1420 verfl. Kok. u. n. verfl. Bakt.	220 desgl.	10 verfl. Kok.	0
	Ende	0	770 v. Kok. u. n. v. Bakt. ¹⁴⁾	30 desgl.	0	0

9) Auch ein paar der erwähnten Coli-ähnlichen Kokkenkolonien nebst einigen Subtilis-ähnlichen Bacillen.

10) Auch ein Paar der erwähnten Coli-ähnlichen Kokkenkolonien nebst einer Subtilis-ähnlichen Kolonie.

11) Auch eine Kolonie eines Subtilis-ähnlichen Bacillus.

12) Auch eine Hefe- und eine Coli-ähnliche Kokkenkolonie.

13) Auch eine der erwähnten Coli-ähnlichen Kokkenkolonien.

14) Auch eine der erwähnten Coli-ähnlichen Kokkenkolonien.

15) Auch einige Hefe- und Coli-ähnliche Kokkenkolonien.

16) Darunter auch viele Kolonien eines Coccobacteriums, B. aërogenes-ähnlich, von letzterem jedoch verschieden, da er Zucker nicht vergärt.

Studien über die flüchtigen Fettsäuren im Käse nebst Beiträgen zur Biologie der Käsefermente.

Von Dr. Orla Jensen,

Vorstand der schweizerischen milchwirtschaftlichen Versuchsanstalt.

(Fortsetzung.)

Aus der Tabelle V geht hervor, daß in keinem untersuchten Emmentalerkäse mehr (Capron- und) Buttersäure vorgefunden wurde, als was von der Fettspaltung herrühren kann; eine Buttersäuregärung findet daher in dieser Käsesorte nicht statt. Wie in dem zuerst untersuchten Käse, bestand auch hier die Hauptmenge der flüchtigen Säure aus Propion- und Essigsäure.

Die Anzahl der Analysen ist zu klein, um zu entscheiden, ob die Menge der flüchtigen Säuren und das Verhältnis Ps:Es von der Qualität der Käse abhängt. Nur das fällt in die Augen, daß der blinde Käse weniger flüchtige Säuren als die anderen Käse enthielt. Diese Tatsache führte mich auf den Gedanken, daß die Bildung von flüchtigen Säuren im Emmentalerkäse in Beziehung zu der in diesen Käsen stattfindenden Lochbildung stehe.

Um diesen Punkt aufzuklären, müßte man die flüchtigen Säuren in einem Emmentalerkäse vor und nach der Lochbildung bestimmen. Zu diesem Zwecke hatte Herr Peter, Direktor der Molkereischule Rütli, die Liebenswürdigkeit, aus dem gleichen Bruch 2 verschieden große Käse (der eine 30 kg und der andere 70 kg schwer) herstellen zu lassen. Der kleinere wurde nach 1 Monate, zu welcher Zeit er noch gar keine Löcher zeigte, und nach 3 Monaten, als die Lochbildung beendet war, untersucht, der größere nach 3 und nach 5 Monaten. Ich hatte die Käse verschieden groß gewünscht, um den Einfluß der Größe auf die Lochbildung zu untersuchen. Leider wurden diese beiden Käse nur sehr wenig gelocht, der kleinere Käse jedoch am wenigsten, wie zu erwarten war. Tabelle VI zeigt, daß die Reifung in beiden Käsen gleich verlief und daß eine etwas größere Menge flüchtiger Säuren sich im großen Käse (im etwas besser gelochten Käse) gebildet hatte.

Tabelle VI.

		L. N.	Z. N.	A. N.	D. Z.	Capron- säure	Butter- säure	Propion- säure	Essig- säure	Ps : Es
Inneres	Der kleine Käse 1 Monat alt	19,6	6,5	1,3	8,0	—	—	1,3	6,7	1 : 5
	Der kleine Käse 3 Monate alt	34,3	11,9	2,0	26,5	—	—	8,3	18,2	1 : 2,2
	Der große Käse 3 Monate alt	34,3	11,7	2,0	33,0	—	—	11,6	21,4	1 : 1,8
	Der große Käse 5 Monate alt	37,5	12,3	2,4	34,5	0,1	0,2	11,5	22,7	1 : 1,8
Aeußeres	Der große Käse 5 Monate alt	—	—	—	21,0	2,0	4,0	10,0	5,0	2 : 1

Die Tabelle zeigt deutlich, daß die Menge der Propion- und Essigsäure im Emmentalerkäse während der Lochbildung stark zunimmt, nach der Lochbildung dagegen so langsam, daß man im Laufe von 2 Monaten fast keine Vermehrung konstatieren konnte. Es ist deshalb anzunehmen, daß die Gase, welche die Löcher bilden, und die flüchtigen Säuren durch denselben chemischen Prozeß entstehen. In meiner Arbeit „Studien über die Lochbildung in den Emmentalerkäsen“¹⁾ habe ich gezeigt, daß die Gase, welchen die normalen Löcher im Emmentalerkäse ihre Entstehung verdanken, von den normalen Reifungserregern dieser Käsesorte und höchst wahrscheinlich auf Kosten der stickstoffhaltigen Substanzen gebildet werden. Der Milchzucker kann nämlich bei der normalen Lochbildung als solcher nicht in Betracht kommen, weil er schon, bevor dieser Vorgang seinen Anfang nimmt, vergoren ist.

Von den im Emmentalerkäse vorkommenden stickstoffhaltigen Substanzen, aus welchen Gas (CO_2) entstehen kann, sind besonders das Arginin, das Lysin und vielleicht auch das Tyrosin zu nennen. Das Arginin²⁾, welches fast immer gleichzeitig mit dem Histidin und Lysin gebildet wird, ist freilich noch nicht im Käse gefunden worden, aber nur, wie Winterstein³⁾ meint, weil es sehr leicht weiter zersetzt wird, teils unter Wasseraufnahme, wodurch Harnstoff und Ornithin entstehen, teils unter Sauerstoffaufnahme, wodurch Guanidinbuttersäure, Guanidin, Bernsteinsäure, Kohlensäure und Ammoniak entstehen. Der aus dem Arginin gebildete Harnstoff wird leicht in kohlen-saures Ammoniak umgebildet, woraus die CO_2 frei wird, wenn die Käsemasse noch sauer reagiert, und das ebenfalls aus dem Arginin gebildete Ornithin (Diaminovaleriansäure) kann unter Kohlensäureabspaltung weiter in Putrescin (Tetramethyldiamin) übergehen. Da Winterstein nicht nur Putrescin, sondern auch Guanidin und Bernsteinsäure im Emmentalerkäse gefunden hat, ist es wahrscheinlich, daß das Arginin nach den beiden erwähnten Richtungen gespalten wird. Analog mit dem Ornithin kann unter Kohlensäureabspaltung das Lysin (Diaminocapronsäure in Kadaverin (Pentamethyldiamin) und das Tyrosin (Oxyphenylaminopropionsäure) in Oxyphenyläthylamin übergehen. Das Kadaverin ist, wie bereits erwähnt, von Winterstein im Emmentalerkäse gefunden worden, das Oxyphenyläthylamin dagegen noch nicht. Jedoch vermutet Winterstein, daß ein Teil des Tyrosins während der Reifung des Emmentalerkäses zersetzt wird, weil sich gewöhnlich nur wenig desselben in dieser Käsesorte nachweisen läßt.

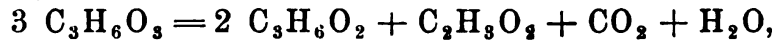
Es entstehen somit während der Käsereifung viele stickstoffhaltige Substanzen, die als Quelle der für die Lochbildung nötigen Gasentwicklung dienen könnten. Es entstehen indessen auch einige stickstofffreie Körper, aus denen Kohlensäure abgespalten werden kann, nämlich die aus dem Milchzucker gebildete Milch-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 217, 265, 325.

2) Eine vorzügliche Uebersicht von E. Schulze und E. Winterstein „Ueber die bei der Spaltung der Eiweißsubstanzen entstehenden basischen Produkte“ ist in Ergebnisse der Physiologie. Jahrg. I. 1902. erschienen.

3) l. c.

säure und die durch die Zersetzung des Arginins gebildete Bernsteinsäure. Wie Fitz¹⁾ gezeigt hat, können gewisse Mikroorganismen aus milchsaurem Kalk propionsauren und essigsuren Kalk bilden. Wahrscheinlich verläuft dieser Prozeß nach folgender Gleichung:



nach welcher der Kalk nur für die Neutralisierung der Propion- und Essigsäure hinreicht, während die Kohlensäure frei wird und somit die Löcher bilden könnte, wenn dieser Prozeß im Käse stattfinden würde. Die Bernsteinsäure kann, wie Béchamp²⁾ gezeigt hat, durch faules Fleisch in Propion- und Kohlensäure gespalten werden. Da bei diesen beiden Prozessen gerade Propionsäure, die während der Lochbildung gebildet wird, entsteht, ist aller Grund vorhanden, seine Aufmerksamkeit ganz speziell darauf zu richten, ob die normalen Reifungserreger der Emmentalerkäse im stande seien, Milchsäure und Bernsteinsäure zu vergären. Da diese Mikroorganismen indessen nur noch wenig untersucht worden sind, wollen wir gleichzeitig die Gelegenheit benutzen, sie auch in anderen Richtungen, insofern diese für die Käsereifung Interesse haben, zu studieren.

Nach den schon erwähnten Untersuchungen v. Freudenreichs bestehen die im Emmentalerkäse immer anzutreffenden Bakterien fast ausschließlich aus Milchsäurefermenten. Die wichtigsten derselben sind ein gelatineverflüssigender Coccus, den ich *Micrococcus casei liquefaciens* Freudenreich nennen will, *Bacterium lactis acidi* Leichmann, *Bacillus casei* α Freudenreich, *Bacillus casei* ε Freudenreich, *Bacillus casei* γ Freudenreich und *Bacillus casei* δ Freudenreich. Die morphologischen und kulturellen Eigenschaften dieser Bakterien sind von v. Freudenreich und Thöni eingehend untersucht worden und ich kann in dieser Hinsicht auf eine in nächster Zeit im Landwirtschaftlichen Jahrbuch der Schweiz erscheinende Arbeit verweisen. Uns interessiert es, besonders die Einwirkung jeder dieser Bakterien allein und im Verein miteinander auf Kasein, Parakasein, Milchzucker, Milchsäure, Bernsteinsäure und Glycerin kennen zu lernen. Ich habe das Glycerin in diese Reihe von Stoffen aufgenommen, weil es als Fettspaltungsprodukt in allen Käsesorten in größerer oder kleinerer Menge gebildet wird. Gegenüber dem unveränderten Milchfett sind die oben erwähnten Käsefermente, wie es aus meiner Arbeit „Studien über das Ranzigwerden der Butter“ hervorgeht, alle indifferent.

Der geeignetste Kasein- und Milchzuckernährboden ist Zentrifugmilch. Diese hat gegenüber Vollmilch den Vorteil, daß man eventuelle, aus dem Fette entstandene Spaltungsprodukte nicht zu berücksichtigen braucht. Die Milch muß, wenn sie für Säurebildner verwendet werden soll, vor der Sterilisierung mit so viel Kreide versetzt werden, daß die entstandene Säure stets abge-

1) l. c.

2) Bull. T. XI. p. 418.

stumpft wird und somit nicht der Lebenstätigkeit der Bakterien schaden kann. Als Parakaseinnährboden verwendete ich Zentrifugenmilch (mit oder ohne Kreidezusatz), die vor der Sterilisierung unter fortwährendem Schütteln gelabt worden war, und als Milchsäure-, Bernsteinsäure- und Glycerinnährböden wurde eine amphotere Peptonbouillon verwendet, die auf 1 l Brunnenwasser 20 g Wittes Pepton, 5 g NaCl, 2 g KH_2PO_4 , 0,5 g MgSO_4 und 22,5 g milchsauren Kalk bzw. 10 g bernsteinsauren Kalk oder 50 g Glycerin enthielt.

Um die Bedeutung der verschiedenen im Käse vorkommenden Mikroorganismen für die Käsereifung zu beurteilen, fand ich es als unumgänglich notwendig, nicht nur ihre Einwirkung auf Kasein, sondern auch auf Parakasein zu untersuchen, denn nur in Sauermilchkäsen kommt Kasein vor, in den meisten und wichtigsten Käsesorten (den Labkäsen) bestehen die Eiweißstoffe fast ausschließlich aus Parakasein, und es wäre von vornherein keineswegs unmöglich, daß gewisse Mikroorganismen, die nicht imstande sind, das Kasein anzugreifen, gleichwohl die Fähigkeit hätten, das Parakasein zu zersetzen. Dieses ist sogar sehr wahrscheinlich, wenn man bedenkt, daß die Gerinnung der Milch mittels Labs nach Hammarsten als ein hydrolytischer Prozeß aufzufassen ist, bei welchem das Kasein in Parakasein und Molkenprotein gespalten wird, ähnlich wie die Saccharose durch Invertin in Dextrose und Lävulose zerlegt wird, und ebenso wie die Saccharose als solche für die Hefen nicht angreifbar ist und sich erst nach der Invertierung vergären läßt, so wäre es auch anzunehmen, daß das Kasein zuerst gelabt werden muß, um weiter zersetzt werden zu können. In der Tat sind bis jetzt keine Bakterien beschrieben worden, welche die Milch peptonisieren, ohne sie vorher zu laben. Hiermit ist natürlicherweise nicht bewiesen, daß diese Bakterien nur das Parakasein und nicht das Kasein anzugreifen vermögen, jedoch ist dadurch wahrscheinlich gemacht worden, insofern man überhaupt einen Zweck in der Natur erkennt, daß das Parakasein ihnen ein geeigneterer Nährboden als das Kasein ist, denn sonst wäre für diese Bakterien kein Grund vorhanden, die Milch zuerst durch Lab zur Gerinnung zu bringen. Ebenso wie es dextrosevergärende Hefen gibt, die kein Invertin besitzen, und daher Saccharose nicht vergären können, so wäre es auch denkbar, daß parakaseinzersetzende Bakterien existieren, die kein Lab produzieren und daher auch Kasein nicht zersetzen können.

Ungünstig für unsere Untersuchungen wirkt der Umstand, daß man genötigt ist, sterilisierte Milch zu verwenden. Das Kasein und noch mehr das Parakasein werden durch das Sterilisieren so stark verändert, daß man die Möglichkeit zugeben muß, daß Bakterien, die sterilisiertes Kasein und Parakasein nicht anzugreifen vermögen, vielleicht doch diese Stoffe in ihrem natürlichen Zustande umbilden könnten. Bekanntlich bräunt sich die Milch beim Sterilisieren, und diese Bräunung rührt nicht, wie allgemein angenommen wird, hauptsächlich von einer Karamelisierung des Milchezuckers, sondern in erster Linie von einer Bräunung der Eiweiß-

stoffe her. Daß dieses wirklich der Fall ist, sieht man daraus, daß nach Kochen der sterilisierten Milch mit Essigsäure die braune Farbe an den ausgeschiedenen Eiweißkörpern haftet und nicht an der überstehenden Milchzuckerlösung, die nur schwach gelblich ist. Man könnte hier freilich einwenden, daß diese Erscheinung daher rührt, daß die Eiweißkörper den aus dem Milchzucker entstandenen Farbstoff mitgerissen hätten. Daß es sich jedoch nicht so verhält, zeigt folgender Versuch. Mischt man 4 Teile einer sterilisierten Milchzuckerlösung (eine nicht alkalische Milchzuckerlösung wird bei dem für Milch üblichen Sterilisierungsverfahren, Erhitzung $\frac{1}{4}$ Stunde auf $115-120^{\circ}\text{C}$, überhaupt nur schwach hellgelb) mit einem Teil roher Milch und kocht diese Mischung mit Essigsäure, so scheiden die Eiweißstoffe sich ebenso weiß aus als in roher, mit Wasser verdünnter Milch. Ferner wird nur ein äußerst geringer Teil des Milchzuckers durch die Sterilisierung der Milch verändert, so fand ich z. B. in einer Zentrifugenmilch vor der Sterilisierung 5,10 Proz. Milchzucker und nach derselben 5,03 Proz. Das Kasein dagegen wird nicht nur durch die Sterilisierung gebräunt, sondern zeigt sich nach Ausfällung mit Essigsäure hart und zähe. Durch Sterilisierung der Milch nimmt ihr Säuregrad immer zu, so zeigte eine rohe Zentrifugenmilch einen Säuregrad von 6,6 (nach Soxhlet und Henkel) und dieselbe Milch nach der Sterilisierung den Säuregrad 8,2. Diese Erhöhung des Säuregrades entsteht nicht auf Kosten des Milchzuckers, denn eine Milchzuckerlösung ändert beim Sterilisieren nicht ihren Säuregrad, sie muß daher von Veränderungen des Kaseins oder der Phosphate herühren.

Wie erwähnt, wurden einige Milchkolben mit Kreide versetzt. Diese brausten beim Sterilisieren stark auf, was darauf hindeutete, daß Kohlensäure verjagt wurde. Da nach Söldner das Kasein in Form eines gegen Phenolphthalein saurer reagierenden Kalkkaseins in der Milch vorkommt, das noch mehr Kalk binden kann, so lag es nahe, anzunehmen, daß die bei der Sterilisierung der Milch mit Kreide stattfindende Reaktion in der Bildung eines mehr gesättigten Kalkkaseins bestünde. Für unsere Untersuchungen ist es nicht ohne Bedeutung, die genaue Zusammensetzung der verwendeten Nährböden zu kennen, wenn man aus den in denselben hervorgerufenen Veränderungen Schlüsse für den Käsereifungsprozeß ziehen will, weshalb ich auch das oben erwähnte Verhältnis, und zwar in folgender einfacher Weise, untersucht habe. In der gleichen Milch, mit und ohne Kreide sterilisiert, wurden die Säuregrade vor und nach der Filtration durch Chamberlandsche Kerzen ermittelt. Von den letzteren wird das Kasein zurückgehalten und kann daher den Säuregrad der Milchfiltrate nicht beeinflussen. Die Differenz zwischen den Säuregraden einer Milch vor und nach der Filtration durch eine Chamberlandsche Kerze muß daher als der Säuregrad des Kaseins dieser Milch aufgefaßt werden.

Nachstehende Tabelle zeigt, daß diese Differenz nicht vom Kreidezusatz beeinflußt worden ist, und daß das Kasein sich daher

auch nicht beim Sterilisieren mit Kreide mit Kalk verbunden hat, denn dann wäre es weniger sauer oder sogar neutral geworden. Aus der Tabelle geht dagegen hervor, daß die sauren Phosphate der Milch, die vor allem den Säuregrad der Kerzenfiltrate beeinflussen, durch die Kreide abgestumpft worden sind. Die dadurch frei gewordene CO_2 wird das Aufbrausen der Milch beim Sterilisieren hervorgerufen haben.

Tabelle VII.

	Säuregrad vor der Filtration	Säuregrad nach der Filtration	Differenz
Milch ohne Kreide sterilisiert	8,2	4,0	4,2
Die gleiche Milch mit Kreide sterilisiert	6,8	2,6	4,2

Um ein Bild der in einer Milch vor sich gehenden Zersetzungen der Eiweißstoffe zu bekommen, bestimme ich, ebenso wie im Käse, den Stickstoff der löslichen stickstoffhaltigen Substanzen (L. N.), den Stickstoff der mit Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Substanzen (Z. N.) und den Ammoniakstickstoff (A. N.) und drücke alles in Prozenten des Gesamtstickstoffes aus. Da die Milch sich indessen nur durch Chamberlandsche Kerzen unter starkem Drucke klar filtrieren läßt und diese Filtration mehr als eine Diffusion aufzufassen ist, bei welcher, wie v. Freudenreich und ich¹⁾ bewiesen haben, die gefundene Menge L. N. von der Durchlässigkeit der Kerze abhängt, ziehe ich vor, die Milch durch Kochen mit Essigsäure von Kasein und Albumin zu befreien, wonach sie sich leicht klar filtrieren läßt, und dann mit L. N. nur den Stickstoff der nach dieser Prozedur noch in Lösung gebliebenen stickstoffhaltigen Substanzen zu bezeichnen. An diesem Verfahren haftet der Fehler, daß die durch die Bakterientätigkeit gebildeten löslichen Eiweißstoffe, welche durch Kochen mit Essigsäure ausgefällt werden, sich der Analyse entziehen. In den meisten Kulturen findet man indessen wenig solcher Eiweißkörper, fast keine, wenn man nur die Bakterien ihre Tätigkeit längere Zeit fortsetzen läßt, was ich immer getan habe, denn von der Tatsache ausgehend, daß die Käsereifung ein langer Prozeß ist, habe ich auch die Käsefermente lange auf die verschiedenen Nährböden einwirken lassen, um Resultate zu erzielen, die auf die Käsereifung übertragbar sind. Durch diese lange Einwirkung wird die Milch gewöhnlich so verändert, daß man sie durch Filtrierpapier filtrieren kann, und es läßt sich dann leicht feststellen, wie viel durch Kochen mit Essigsäure fällbare Proteinstoffe das Filtrat enthält. In allen Fällen gibt die Essigsäuremethode bei sterilisierter Milch höhere und bedeutend genauere Zahlen für den L. N., als die Filtration durch die Chamberlandsche Kerze liefert. Um zu konstatieren, ob eine Milch von einem Mikroorganismus in irgend einer Richtung verändert wird, ist es notwendig, immer (nicht geimpfte) Kontroll-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. 1900. p. 16.

Zweite Abt. Bd. XIII.

kolben mit der gleichen, genau in gleicher Weise sterilisierten und aufbewahrten Milch zum Vergleich heranzuziehen. Da während des Versuches viel Wasser aus den nur mit Watte verschlossenen Milchkolben verdunstet, besonders wenn diese bei höherer Temperatur aufbewahrt werden, so ist ferner notwendig, sowohl die Versuchskolben als auch die Kontrollkolben nach der Sterilisierung zu wägen und sie dann vor der Untersuchung mit destilliertem Wasser bis auf ihr ursprüngliches Gewicht aufzufüllen. Nachfolgende Tabelle gibt die Analyse der bei meinen Versuchen verwendeten sterilisierten Zentrifugenmilch und zeigt in Uebereinstimmung mit den Befunden von Hammarsten, daß der L. N. der Labgerinnung erhöht wird.

Tabelle VIII.

	L. N.	Z. N.	A. N.	Milchzucker in Proz. der Milch
Milch 1	15,40	4,29	0,76	5,03
Milch 2	12,87	5,52	0,87	5,14
Milch 3	13,80	5,35	1,25 ¹⁾	5,30
Milch 4, gelabt	14,93	6,20	0,41	
Milch 5	13,33	6,00	0,52	
Milch 5, gelabt	16,66	5,96	0,52	

Der Milchzucker wurde gewichtsanalytisch nach Soxhlet bestimmt, nachdem die Eiweißstoffe mit Kupferhydrat nach Ritt- hausen ausgefällt worden waren. Gleichzeitig mit dieser Aus- scheidung ist es, wie Scheibe²⁾ gezeigt hat, notwendig, den Kalk der Milch mittels NaF auszufällen, weil die Kalksalze die Zucker- bestimmung derart beeinflussen, daß man zu kleine Resultate be- kommt. Die in den Milchkulturen gebildeten flüchtigen Säuren wurden in gleicher Weise untersucht, wie diejenigen im Käse vor- kommenden³⁾. Wenn die Kulturen alkalisch oder nur sehr schwach sauer reagierten, mußte man sie natürlicherweise vor der Destil- lation mit der im voraus annähernd bestimmten nötigen Menge Schwefelsäure ansäuern. Wie schon erwähnt, muß man indessen bei der Erhitzung der Milch einen Ueberschuß an Schwefelsäure vermeiden. Ein solcher kam bei meinen Untersuchungen auch nie vor, denn sämtliche nicht sauren Kulturen der oben erwähnten Bakterien enthielten milchsauer Kalk und wurden daher durch Zusatz von Schwefelsäure bloß milchsauer. Ein unnötiger Ueber- schuß an Milchsäure ist jedoch auch zu vermeiden, weil diese Säure sonst wegen ihrer Flüchtigkeit mit den Wasserdämpfen die bei der

1) Wie schon erwähnt, wurden die Kontrollkolben mit den Versuchskolben aufbewahrt und erst gleichzeitig mit den letzteren untersucht; es ist daher nicht ausgeschlossen, daß die Milch Ammoniak aus der Luft in den Bruträumen ab- sorbiert hat.

2) Zeitschr. f. analyt. Chemie. 1901. p. 1.

3) Um diese Arbeit nicht unnütz auszudehnen, werden die Analysen der in den Milchkulturen gebildeten flüchtigen Säuren nicht in allen ihren Details wiedergegeben, zumal sie sich in den meisten Fällen einfacher gestalten als die Käseanalysen.

Trennung der flüchtigen Säuren gefundenen Verhältniszahlen derart beeinflussen könnte, daß letztere zu viel Ameisensäure angeben würde. Von 110 ccm stark verdünnter Milchsäurelösung gehen nach meiner Untersuchung 5,7 Proz. in 100 ccm Destillat hinüber.

Der durch Destillation mit Wasserdämpfen von flüchtigen Säuren befreite Rückstand der Kulturen wurde mit einer zur Bindung der basischen Bestandteile nötigen Menge Schwefelsäure versetzt, zur Sirupkonsistenz auf dem Wasserbade eingedunstet und unter reichlichem Zusatz von Sand wiederholt mit Aether verrieben. Die gesammelten Aetherauszüge dienten nach Filtration zum Nachweis von Milchsäure und Bernsteinsäure. Wenn letztere Säure in merkbarer Menge vorliegt, wird sie durch freiwilliges Verdunsten des Aethers auskristallisieren; die nicht auskristallisierende Milchsäure gießt man in diesem Falle einfach durch ein Filter ab und die Kristalle der Bernsteinsäure spült man mit möglichst wenig Aether rein. Diese Kristalle lassen sich leicht durch ihren Schmelzpunkt und durch die Eigenschaften der daraus gebildeten Baryt- und Eisensalze identifizieren. Die reine Bernsteinsäure schmilzt nämlich bei 185°C (die Dämpfe rufen Husten hervor), das bernsteinsaure Baryt bildet schwerlösliche, mikroskopisch leicht zu erkennende Täfelchen und das bernsteinsaure Eisenoxyd scheidet sich als eine rotbraune gelatinöse Masse aus. Zur Bestimmung der Milchsäure dienen ihre Zinksalze. Dieselben werden durch Digerieren der mit Wasser verdünnten Säure mit ZnO oder ZnCO_3 dargestellt. Sie kristallisieren leicht aus, besonders das Salz der inaktiven Säure, das viel schwerer löslich als diejenigen der aktiven Säuren ist. Nach Kayser¹⁾ wird von 100 g Wasser bei 20°C 1,7 g inaktives Zinklaktat und 5,3 g aktives gelöst. Makroskopisch erkennt man sehr leicht, ob ein inaktives oder aktives Salz vorliegt. Ersteres bildet nämlich zuerst eine Kristallkruste an der Oberfläche, währenddem letztere (wenigstens das Zinksalz der Rechtsmilchsäure, die Linksmilchsäure habe ich nie angetroffen) dieses nie tun, sondern in warzenförmige Haufen auf dem Boden der Schale auskristallisieren. Die Zinklaktate kristallisieren alle in rhombischen Prismen, das inaktive in größeren und gewöhnlich etwas weniger zugespitzten als die aktiven. Zu näherer Identifizierung dienen nebst der schwachen Linksdrehung des Salzes der Rechtsmilchsäure und der ebenso schwachen Rechtsdrehung des Salzes der Linksmilchsäure ihr Kristallwasser und ihr Zinkgehalt. Das inaktive Zinklaktat hat die Formel $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3)_2\text{Zn} + 3\text{H}_2\text{O}$ und enthält somit 18,2 Proz. H_2O und 27,2 Proz. ZnO . Die Zinksalze der aktiven Säuren entsprechen der Zusammensetzung $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3)_2\text{Zn} + 2\text{H}_2\text{O}$ und enthalten also 12,9 Proz. H_2O und 29,0 Proz. ZnO . Zum völligen Trocknen der aktiven Zinklaktate ist eine Erwärmung auf $140\text{--}160^{\circ}\text{C}$ 2 Stunden lang erforderlich. Nach diesen analytischen Angaben werden wir uns zu dem Studium der einzelnen Käsefermente wenden und fangen mit *Micrococcus casei liquefaciens* an.

1) Etudes sur la fermentation lactique. (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1894. p. 769.)

Micrococcus casei liquefaciens vermehrt sich nach den Untersuchungen von v. Freudenreich¹⁾ und Troili Petersson²⁾ ganz ungemein stark in der ersten Zeit nach der Herstellung des Emmentalerkäses, nimmt aber an Zahl bald wieder ab und kommt während der Hauptgärung nur spärlich vor. Da er indessen das Kasein anzugreifen vermag, muß man auch annehmen, daß er oder seine Enzyme eine Rolle bei der Käseerzeugung spielen. Bei 35° C bringt er die Milch in 24 Stunden zur Gerinnung, und zwar, wie Gorini³⁾ gezeigt hat, unter gleichzeitiger Bildung von Lab und Säure; später peptonisiert er das gebildete Parakasein. Bei 20° C bringt er die Milch erst nach 2—3 Tagen zur Gerinnung, peptonisiert sie aber, wie aus der nachstehenden Tabelle hervorgeht, schneller als bei höherer Temperatur. Da er sich bei viel niedrigerer Temperatur als die eigentlichen Milchsäurefermente vermehren kann, sind letztere in abgekühlter Milch nicht im stande, seine Entwicklung zu unterdrücken, weshalb er sich in der in den Gebirgen aufgestellten Milch reichlich vermehren kann und somit mit dieser Milch in großer Menge in die Käse gelangt. Nach den Versuchen von v. Freudenreich und Thöni⁴⁾ soll er von den im Kuheuter sehr häufig vorkommenden verflüssigenden Kokken verschieden sein. Ob er mit *Micrococcus acidilactici* Krüger⁵⁾ identisch sei, ist wegen der unvollständigen Beschreibung des letzteren Coccus nicht möglich zu sagen. *Micrococcus casei liquefaciens* oder jedenfalls sehr verwandte Arten kommen auch in Butter vor. Nachstehende Tabelle zeigt das Verhalten dieses Coccus gegenüber den Eiweißstoffen der Milch. Mit den „gebildeten Mengen“ L. N., Z. N. und A. N. werden die „gefundenen Stickstoffmengen“ minus die in der Kontrollmilch schon vorhandenen entsprechenden Stickstoffmengen verstanden (vgl. Tabelle VIII).

Tabelle IX.

Milchnummer	Aufbewahrungstemp.	Alter zur Zeit der Untersuchungen	Gefundene Mengen			Gebildete Mengen				
			L. N.	Z. N.	A. N.	L. N.	Z. N.	A. N.	Z. N. in Proz. des L. N.	A. N. in Proz. des L. N.
1 ohne Kreide	35° C	3 Mon.	66,41	10,35	1,89	51,01	6,06	1,13	11,88	2,22
1 mit „	35° C	3 „	80,55	20,45	4,17	65,15	16,16	3,41	24,80	5,23
2 mit „	35° C	5 „	74,02	23,45	5,75	61,15	17,93	4,88	29,32	7,98
2 ohne „	20° C	5 „	74,48	14,25	2,30	61,61	8,73	1,43	14,17	2,30
1 mit „	20° C	3 „	91,10	16,41	2,65	75,70	12,12	1,89	16,01	2,50
4 gelabt, mit Kreide	20° C	3 „	87,32	18,17	—	72,39	11,97	—	16,53	—

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß *Micrococcus casei liquefaciens* die Eiweißstoffe der Milch besser angreifen kann,

- 1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1900. p. 685.
- 2) Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1902. p. 26.
- 3) Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1902. p. 22.
- 4) Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1903. p. 234.
- 5) Centralbl. f. Bakt. 1890. p. 425.

wenn man mittels Kreide eine neutrale Reaktion erhält. Sein proteolytisches Enzym ähnelt also in dieser Beziehung mehr Trypsin als Pepsin, es bildet jedoch selbst nach längerer Zeit verhältnismäßig wenig weitere Zersetzungsprodukte. Durch die Einwirkung von *Micrococcus casei liquefaciens* wird die Milch braun und läßt sich leicht durch Filtrierpapier filtrieren. Das Filtrat riecht nach Bouillon und hat den für peptonisierte Flüssigkeiten charakteristischen bitteren Geschmack. Durch Kochen mit Essigsäure entsteht darin keine Ausfällung, Kupferhydrat nach Ritt-hausen ruft dagegen eine solche hervor. Nach Aussalzen mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ gibt das Filtrat noch eine deutliche Bluretreaktion, was beweist, daß es echte Peptone enthält. Da die Galaktase und das Pepsin, wie ich ¹⁾ gezeigt habe, kaum eine merkbare Rolle für die Reifung der Emmentalerkäse spielen, und da sich in dieser Käsesorte gewöhnlich keine anderen echt peptonisierenden Bakterien als *Micrococcus casei liquefaciens* entwickeln, so muß man auch diesem Coccus die Bildung von löslichen Proteinstoffen zuschreiben. Eine Stütze für diese Annahme liegt darin, daß die Enzyme dieses Coccus ganz wie die im Emmentalerkäse vorkommenden Enzyme bei Zimmertemperatur mehr lösliche Proteinstoffe, aber weniger Zersetzungsprodukte bilden als in der gleichen Zeit bei 35° C (vgl. vorstehende Tabelle mit den Tabellen XXX und XXXI in meiner Arbeit: „Studien über die Enzyme der Käse“. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 831). Tabelle X zeigt das Verhalten des *Micrococcus casei liquefaciens* gegenüber Milchzucker.

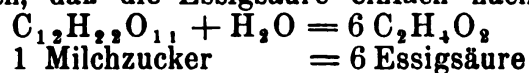
Tabelle X.

Milchnummer	Aufbewahrungstemperatur	Alter zur Zeit der Untersuchung	Säuregrade in ccm $\frac{n}{10}$ Lauge ausgedrückt	Milchzucker in Proz. der Milch		Vergorener Milchzucker in % des ursprüngl. Milchzuckers	D. Z.	Es : Ps	Sonstige flüchtige Säuren	Flüchtige Säuren in Proz. des vergorenen Milchzuckers
				Nicht vergoren	Vergoren					
1 ohne Kreide	35° C	3 Mon.	37,3	4,40	0,63	12,5	29,0	20	Eine Spur Valeriansäure, Buttersäure und Ameisensäure	26
1 mit „	35° C	3 „	—	2,43	2,60	51,7	119,0	20	do.	26
2 „	35° C	5 „	—	1,74	3,40	66,1	123,0	20	do.	20
2 ohne „	20° C	5 „	62,0	4,64	0,50	9,7	20,5	12	do.	23
1 mit „	20° C	3 „	—	4,10	0,93	18,5	30,0	12	do.	19

Aus dieser Tabelle geht die übrigens selbstverständliche Tatsache hervor, daß *Micrococcus casei liquefaciens* mehr

1) Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1901. p. 197.

Zucker vergären kann, wenn die daraus gebildete Säure durch Kreide neutralisiert wird, ferner, daß er im Gegensatz zu seinem Verhalten gegenüber dem Kasein bei höherer Temperatur mehr Milchzucker angreift als bei niedriger Temperatur. Man darf daher nie im allgemeinen von der Optimaltemperatur eines Mikroorganismus sprechen; jede einzelne Funktion hat ihr Temperaturoptimum. Wie die Tabelle zeigt, bildet *Micrococcus casei liquefaciens* eine große Menge flüchtiger Säuren, die hauptsächlich aus Essigsäure bestehen, aber auch Propionsäure enthalten. Bei 20° C wird verhältnismäßig mehr dieser letzten Säure als bei 35° C gebildet. Denkt man sich, daß die Essigsäure einfach nach der Gleichung



entsteht, so bildet sich aus 1 g Milchzucker eine Essigsäuremenge, die 175,4 ccm $\frac{n}{10}$ Lauge entspricht, woraus sich die in der letzten Kolonne der Tabelle X stehenden Zahlen berechnen lassen. Der Teil des vergorenen Milchzuckers, der nicht in flüchtige Säuren umgebildet worden ist, ist zum Teil in Milchsäure, zum Teil in andere Nebenprodukte gespalten oder gänzlich verbrannt worden. Da in den Kulturen ohne Kreide die Differenz zwischen dem Säuregrad und der Destillationszahl (beide beziehen sich nämlich auf 100 ccm Kultur) annähernd der Milchsäuremenge entspricht, so sieht man, daß *Micrococcus casei liquefaciens* bei 35° C weniger Milchsäure bildet und daher mehr Milchzucker in CO₂ und neutrale Produkte überführt als bei 20° C. Das aus den Kulturen von *Micrococcus casei liquefaciens* dargestellte Zinklaktat enthielt 12,9 Proz. Wasser und hatte das Drehungsvermögen $[\alpha]_D = -10,8^\circ$. Es entsprach also Rechtsmilchsäure.

Tabelle XI zeigt das Verhalten von *Micrococcus casei liquefaciens* in Peptonbouillon und in dieser Nährflüssigkeit mit einem Zusatz von bernsteinsaurem Kalk, milchsaurem Kalk und Glycerin.

Tabelle XI.

Peptonbouillon	Aufbewahrungstemp.	Alter zur Zeit der Untersuchung	Gebildeter Säuregrad in ccm $\frac{n}{10}$ Lauge ausgedrückt	D. Z.	Valeriansäure	Buttersäure	Propionsäure	Essigsäure	Ameisensäure	Gebildete Mengen	
										Z. N.	A. N.
Ohne Zusatz	35° C	2 Mon.	—	21,1	2,3	3,5	—	12,0	3,3	26,49	15,38
Mit bernsteinsaurem Kalk	35° C	3 "	—	26,0	2,0	5,0	—	17,0	2,0	—	—
Mit milchsaurem Kalk	35° C	3 "	—	50,0	0,1	1,0	7,3	41,5	0,1	20,79	8,97
Mit Glycerin	35° C	1 "	5,0	3,0	—	—	—	—	—	10,49	2,55

Durch vorstehende Tabelle gewinnt man einen interessanten Einblick in die Biologie des *Micrococcus casei liquefaciens*.

Erstens sehen wir, daß diese Bakterie im stande ist, direkt aus Pepton nicht nur Valeriansäure (als Eiweißzersetzungsprodukt muß sie wohl die Isosäure sein) und Buttersäure zu bilden, eine Eigenschaft, die vielen peptonisierenden Bakterien zukommt, sondern auch Essigsäure und Ameisensäure, was seltener ist. Zweitens sehen wir, daß sie weder bernsteinsaurer Kalk angreift, noch von diesem Salz in der Peptonzerersetzung beeinträchtigt wird, denn wir finden die gleichen Säuren annähernd in demselben Verhältnis, mag die Nährflüssigkeit bernsteinsaurer Kalk enthalten haben oder nicht (es ist zu bemerken, daß im ersteren Fall die Kultur zur Zeit der Untersuchung 1 Monat älter war). Ganz anders verhält sich *Micrococcus casei liquefaciens* gegenüber milchsaurem Kalk. Nicht nur vergärt es dieses Salz zu Essigsäure und Propionsäure, sondern das Pepton wird in seiner Gegenwart weniger tief zersetzt, was aus der Abnahme der Ameisensäure, Buttersäure, Valeriansäure und des Ammoniaks ersichtlich ist. Letzteres scheint die Befunde von Hirschler¹⁾ und von Simnitzki²⁾ zu bestätigen, nach welchen die milchsauren Salze hemmend auf die Eiweißzerersetzung wirken. Selber habe ich gefunden, daß *Bacillus fluorescens liquefaciens*, der sich in gewöhnlicher Peptonbouillon unter Bildung von übelriechenden Stoffen sehr gut entwickelt, in solcher mit milchsaurem Kalk versetzten Bouillon so schlecht gedeiht, daß darin, selbst nach Monaten, keine chemischen Veränderungen nachweisbar sind. Das Interessante ist, daß die hemmende Wirkung des milchsauren Kalkes also auch gegenüber einem dieses Salz vergärenden Ferment, wie *Micrococcus casei liquefaciens*, bemerkbar ist. Möglicherweise beruht letzteres indessen nur auf einer Täuschung; würden wir statt „hemmende Wirkung“ „schützende oder schonende Wirkung“ sagen, so kämen wir vielleicht der Wahrheit näher, welche dann die wäre, daß *Micrococcus casei liquefaciens* im stande ist, so viel Energie aus dem milchsauren Kalk zu schöpfen, daß er das Pepton so tief zu zersetzen nicht brauchte.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis der Umbelliferen bewohnenden Puccinien.

Von **Franc. Ottavio Semadeni**, Poschiavo-Graubünden.

Mit 5 Figuren.

(Fortsetzung.)

XX. Infektionsversuch mit Uredosporen von *Puccinia Petroselinii* (D. C.) Lindr., von *Aethusa Cynapium* stammend.

Uredosporen, die im Versuch XVIII (*Aethusa Cynap.*) ge-

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. X. 1886. p. 306.

2) Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXXIX. 1903. p. 99.

wonnen wurden, trug man am 13. Juni 1903 auf nachstehende Pflanzen auf:

- | | | |
|-------------------------------------|---|---|
| XX 1. <i>Aethusa Cynapium</i> | } | gezogen 1903 aus Samen von Würzburg. |
| XX 2. " | | |
| XX 3. <i>Petroselinum sativum</i> | } | gezogen 1903 aus Samen v. Berner bot. Garten. |
| XX 4. " | | |
| XX 5. <i>Conium maculatum</i> | } | gezogen 1903 aus Samen von Darmstadt. |
| XX 6. " | | |
| XX 7. <i>Coriandrum sativum</i> | } | gezogen 1903 aus Samen von Göttingen. |
| XX 8. " | | |
| XX 9. <i>Anethum graveolens</i> | } | gezogen 1903 aus Samen von Karlsruhe. |
| XX 10. " | | |
| XX 11. <i>Foeniculum officinale</i> | | gezogen 1903 aus Samen von Turin. |
| XX 12. <i>Apium graveolens</i> | | im Berner botanischen Garten kultiviert. |
| XX 13. <i>Selinum Carvifolia</i> | | gezogen 1903 aus Samen von Paris. |
| XX 14. <i>Seseli glaucum</i> | | gezogen 1903 aus Samen von Göttingen. |

Am 2. Juli wurden an *Aethusa Cynapium* (XX 1 u. XX 2) die ersten Uredosporen bemerkt. An *Petroselinum* und *Conium* (XX 3—XX 6) konnte keine Infektion nachgewiesen werden. *Coriandrum sativum* (XX 7—XX 8) erwies sich als pilzfrei. Zwar muß angegeben werden, daß beiden Exemplaren die ältesten Blätter, die zur Zeit der Sporenauftragung einzig entwickelt waren, infolge Verwelkens fehlten. Die am 2. Juli vorhandenen sind erst während der Versuchszeit entstanden, mußten somit bei der ersten Kontrolle als pilzfrei hervorgehen. *Anethum graveolens* (XX 9 u. XX 10) trug an den meisten Blättern Uredolager. Die übrigen Pflanzen (XX 11—XX 14) zeigten keine Infektion. Am 18. Juli änderte sich das Resultat nur insofern, als bei *Coriandrum sativum* (XX 7—XX 8) junge, bei *Seseli glaucum* hingegen ältere Uredolager festgestellt wurden. Wie ist nun das zu erklären? *Coriandrum sativum* verlor, wie vorher angegeben wurde, seine ältesten Blätter schon früh während der Versuchszeit. Die nachher entstandenen mittleren Blätter konnten für unsere Infektion nicht in Betracht fallen. Wenn sie aber gleichwohl am 18. Juli *Uredo* trugen, so spricht das dafür, daß die am 2. Juli bei *Aethusa* beobachteten Uredosporen die daneben stehenden *Coriandrum*-Blätter infizierten. Wir haben es also hier wieder mit einem Fall von sekundärer Infektion zu tun. Was nun die Uredolager bei *Seseli glaucum* anbelangt, so glaube ich, da diese älter waren als die vorigen, sie der am 13. Juni stattgefundenen Infektion zuschreiben zu müssen. Sie haben sich wahrscheinlich einige Zeit nach der ersten Kontrolle gebildet. Es scheint also, als ob die *Puccinia*, von *Aethusa Cynapium* stammend, in ihrer Uredoform sich auf *Seseli glaucum* langsamer entwickle als auf *Aethusa* oder *Anethum*. Dies würde im Einklang stehen mit der im Versuch XIX beobachteten Tatsache, wo nämlich die Pykniden der gleichen *Puccinia* auf *Seseli glaucum* und *Libanotis sibirica* sich langsamer entwickelten als auf *Aethusa* und *Anethum*. Ob dies nur Zufall sei oder ob dies nicht einer allgemeinen Erscheinung entspringe, vermag natürlich wegen der geringen Versuchsanzahl nicht gesagt zu werden.

Im Laufe der Versuchszeit verwelkten *Coriandrum*, *Anethum* und *Foeniculum* (XX 7—XX 11); die Infektion beschränkte sich somit auf *Aethusa* und *Seseli*, an denen am 16. August Teleutosporen vom Typus der *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindr. konstatiert wurden.

Das Ergebnis dieser Versuchsreihe stimmt also mit den Resultaten der vorigen. Zudem spricht es dafür, daß die *Puccinia*, von *Aethusa Cynapium* stammend, *Apium graveolens* nicht befällt. Nachdem die Versuche XVIII—XX gezeigt hatten, daß *Seseli glaucum* in den Entwicklungskreis dieser *Puccinia* fällt, schien es nicht uninteressant zu sein, einen letzten Versuch mit ihr vorzunehmen, um zu erfahren, wie sich nun die übrigen *Seseli*-Arten diesem Pilze gegenüber verhalten. Zu diesem Zwecke wurde nun der jetzt zu besprechende Versuch eingeleitet.

XXI. Infektionsversuch mit Uredosporen von *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindr., von *Aethusa Cynapium* stammend.

Uredosporen von den Versuchen XIX und XX wurden am 20. Juli ausgesät auf:

- XXI 1. *Aethusa Cynapium*, gezogen 1903 aus Samen von Würzburg.
- XXI 2. *Conium maculatum*, gezogen 1903 aus Samen von Darmstadt.
- XXI 3. *Foeniculum officinale*, gezogen 1903 aus Samen von Turin.
- XXI 4. *Seseli glaucum*, gezogen 1903 aus Samen von Paris.
- XXI 5. *Seseli montanum*, gezogen 1903 aus Samen vom Berner bot. Garten.
- XXI 6. *Seseli Pallasii*, gezogen 1903 aus Samen von Göttingen.
- XXI 7. *Seseli coloratum* } gezogen 1903 aus Samen von Paris.
- XXI 8. *Selinum Carvifolia* }
- XXI 9. *Aethusa Cynapium*, im Juli 1903 in der Nähe Berns ausgegraben und eingetopft.
- XXI 10. *Libanotis montana* }
- XXI 11. *Seseli Pallasii* } gezogen 1903 aus Samen von Göttingen.
- XXI 12. *Seseli montanum*, gezogen 1903 aus Samen vom Berner bot. Garten.
- XXI 13. *Seseli glaucum*, gezogen 1903 aus Samen von Paris.

Am 16. August verlief die Durchmusterung mit folgendem Ergebnis:

XXI 1 (*Aethusa Cynap.*): Die Blätter sind abgestorben. Am Stengel einige Uredolager, darin primäre Teleutosporen vom Typus der *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindr.

XXI 2 und XXI 3 (*Conium* und *Foeniculum*): Pflanzen pilzfrei.

XXI 4 (*Seseli gl.*): Die meisten Blätter weisen Uredosporen auf, in denen Teleutosporen vom vorigen Typus vorhanden sind.

XXI 5 (*Seseli montan.*): Pflanze pilzfrei.

XXI 6 (*Seseli Pallasii*): Einige Blätter verwelkt. Die zurückgebliebenen tragen zerstreute Uredolager.

XXI 7 (*Seseli colorat.*): Zahlreiche Blätter weisen Uredolager auf.

XXI 8 (*Selinum Carvif.*): Pflanze pilzfrei.

XXI 9 (*Aethusa Cynap.*): Die meisten Blätter mit Uredolagern infiziert. Letztere enthalten Teleutosporen vom Typus der *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindr.

XXI 10 (*Libanotis mont.*): Pflanze verwelkt.

XXI 11 (*Seseli Pallasii*): Die meisten Blätter verwelkt; die zurückgebliebenen tragen zerstreute Uredolager.

XXI 12 (*Seseli mont.*): Pflanze pilzfrei.

XXI 13 (*Seseli gl.*): Die meisten Blätter tragen Uredolager, sowie primäre Teleutosporen vom gleichen Typus, wie sie in XXI 9 enthalten sind.

Am 28. August konnte überall eine Vermehrung der Infektion, sowie an XXI 6, XXI 7 und XXI 11 das Vorhandensein von Teleutosporen vom Typus der *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindr. festgestellt werden.

Das Resultat des Versuches XXI bestätigt vollauf die der späteren Versuchsreihen. Als neu geht aus ihm hervor, daß die *Puccinia* auch *Seseli Pallasii* und *coloratum* befällt. Der negative Erfolg auf *Seseli montanum* bedarf allerdings der Bestätigung durch weitere Kulturversuche. Das Verwelken von *Libanotis montana* entzog uns die Möglichkeit, näheres über die Stellung obiger *Puccinia* gegenüber dieser Pflanze auszusagen. An dieser Stelle sei schließlich bemerkt, daß alle zu den Versuchsreihen XV—XXI aufbewahrten Kontrollpflanzen während der ganzen Versuchsdauer pilzfrei blieben.

Uebersichten wir nun sämtliche mit *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindr., von *Aethusa Cynapium* stammend, ausgeführten Infektionsversuche, so gelangen wir zu folgendem wichtigen Resultate: Die *Puccinia* auf *Aethusa Cynapium* befällt, von dieser Nährpflanze abgesehen, *Anethum graveolens*, *Coriandrum sativum*, *Seseli glaucum*, *Pallasii* und *coloratum*, sowie *Libanotis sibirica*. Sie vermag unter uns unbekannten Bedingungen in ihrer Urediform auf *Conium maculatum* überzugehen. Sie ist nicht identisch mit *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindr. auf *Petroselinum sativum*, mit *Puccinia bullata* (Pers.) auf *Selinum Carvifolia* und auf *Peucedanum graveolens* und scheint es auch nicht zu sein mit *Puccinia bullata* (Pers.) auf *Seseli montanum*, *Peucedanum alsaticum* und *Peucedanum palustre*, sowie mit *Puccinia Angelicae* (Schum.) Fuck. auf *Archangelica officinalis*.

Aus der Tatsache, daß *Puccinia*, von *Aethusa Cynapium* stammend, *Libanotis sibirica* infizierte, wie uns Versuch XIX zeigte und oben angegeben wurde, darf nicht gefolgert werden, daß dieser Pilz identisch sei mit *Puccinia Libanotidis* Lindr. auf *Libanotis sibirica*; denn die im Versuch XIX auf *Aethusa*, *Libanotis* etc. erzielten Teleutosporen stimmten vollständig mit denjenigen der *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindr. überein. Es kann höchstens daraus der Schluß gezogen werden, daß auf *Libanotis sibirica* 2 Puccinien sich entwickeln können, *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindr. und *Puccinia Libanotidis* Lindr. Ferner mag vielleicht auffallen, daß im Schlußresultate am Anfange das Wort Identität nicht gebraucht wurde. Dies geschah

aus der Erwägung, daß über die Identität der auf *Aethusa* vorkommenden *Puccinia* mit den auf *Anethum graveolens*, *Coriandrum sativum*, *Seseli glaucum*, *Pallasii* und *coloratum* lebenden Formen erst nach erfolgten Infektionsversuchen mit jenen Pilzen entschieden werden kann.

Am Ende dieses experimentellen Abschnittes über *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindr. angelangt, ist es am Platze, unser Resultat mit den Angaben Lindroths über das Vorkommen dieser *Puccinia* kurz zu vergleichen.

Wir finden, daß Lindroth die Formen auf *Aethusa Cynapium*, *Anethum graveolens* und *Petroselinum sativum*, das heißt die Formen der *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindr., von den übrigen trennt, die früher, teilweise noch jetzt, ebenfalls zu *Puccinia bullata* Pers. gerechnet wurden. Unsere Versuche rechtfertigen nun diese Trennung, insofern es sich nur um den Pilz auf *Aethusa* handelt. Hingegen zeigen sie klar, daß *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindr. nur eine Sammel-species darstellt, zu der unter anderem die Form auf *Aethusa* gehört, die, abgesehen von dieser Nährpflanze, noch *Anethum graveolens*, *Coriandrum sativum*, *Seseli glaucum*, *Pallasii* und *coloratum*, sowie *Libanotis sibirica*, hingegen nicht *Petroselinum sativum* befällt. Diese Form muß ich als eine biologische Art der obigen *Puccinia* auffassen, da ich keine morphologischen Unterschiede zwischen ihr und den auf *Anethum* und *Petroselinum* lebenden Pilzen fand.

Zum Schlusse sei noch bemerkt, daß, um die Frage der *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindr. völlig zu lösen, es noch weiterer Kulturversuche bedarf, vor allem mit den Formen auf *Anethum* und *Petroselinum*.

(Siehe Tabelle p. 444.)

6. *Puccinia Libanotidis* Lindr.

Die Aufstellung dieser neuen Art geschah ebenfalls durch Lindroth¹⁾, welcher in den Formen auf *Libanotis*-Arten einen Pilz erkannte, der in seinen Teleutosporen sich leicht von den übrigen Formen der *Puccinia bullata* (Pers.) der älteren Autoren auseinander halten läßt. Infektionsversuche, um den Nährpflanzenkreis der auf *Libanotis*-Arten lebenden Puccinien zu bestimmen, fehlen auch hier vollständig. Deshalb entschloß ich mich, als ich im Oktober 1902 bei Tarasp (Kanton Graubünden) auf *Libanotis montana* die Teleutosporen obiger *Puccinia* fand, damit einige Experimente vorzunehmen. Vor allem handelte es sich um eine Prüfung des Lindrothschen Resultates, in zweiter Linie um Entscheidung der Frage: Ist *Puccinia Libanotidis* Lindr. eine Sammel-species oder stellt sie eine feste Art dar?

1) Lindroth, Umbelliferen-Uredineen. (Acta Soc. pro F. et Fl. Fennica T. XXII. No. 1. p. 92—93.)

Tabelle zu den Infektionsversuchen XVI—XXI.

Versuchspflanze	Infektionsmaterial und Versuchsnummer					
	XVI	XVII	XVIII	XIX	XX	XXI
	Uredo- sporen v. Aethusa Cynap.	Uredo- sporen v. Aethusa Cynap.	Teleuto- sporen v. Aethusa Cynap.	Teleuto- sporen v. Aethusa Cynap.	Uredo- sporen v. Aethusa Cynap.	Uredo- sporen v. Aethusa Cynap.
Aethusa Cynapium	+	+	+	+	+	+
Anethum grav.			+* ²⁾	+	+	
Coriandrum sat.			+	×	+	
Petroselinum sat.	—		—	—	—	
Libanotis sib.				+		
„ mont.						×
Conium macul.	+ ¹⁾	—	—	—	—	—
Archangel. off.				—	—	
Selinum Carvifolia			—	—		—
Peucedanum pal.	—					
„ als.				—		
Seseli „glaucum			+* ³⁾	+	+	+
„ montanum						—
„ coloratum						+
„ Pallasii						+
Peucedanum grav.			—	—		—
Foeniculum off.				—	—	—
Apium grav.	—				—	
Pimpinella magna	—					

Erklärung der Zeichen: + = positiver Erfolg; — = negativer Erfolg;
+* = teilweiser Erfolg; × = Pflanzen verwelkt.

XXII. Infektionsversuch mit Teleutosporen von *Puccinia Libanotidis* Lindr., von *Libanotis montana* stammend.

Im Herbst 1902 sammelte ich auf *Libanotis montana* bei Tarasp (Kanton Graubünden) Teleutosporen der *Puccinia Libanotidis* Lindr.

Damit leitete ich am 15. Juni 1903 einen Kulturversuch mit nachstehenden Pflanzen ein:

- | | |
|---|---|
| XXII 1. <i>Libanotis montana</i> | } gezogen 1903 aus Samen von Göttingen. |
| XXII 2. „ „ „ | |
| XXII 3. <i>Libanotis montana</i> | |
| XXII 4. „ „ <i>sibirica</i> | } gezogen 1903 aus Samen von Gießen. |
| XXII 5. „ „ „ | |
| XXII 6. <i>Conium maculatum</i> , gezogen 1903 aus Samen von Darmstadt. | |
| XXII 7. <i>Archangelica officinalis</i> , gezogen 1903 aus Samen von Kew. | |
| XXII 8. <i>Selinum Carvifolia</i> , gezogen 1903 aus Samen von Paris. | |

Am 3. Juli wurden die Versuchspflanzen einer ersten Durchsicht unterworfen. *Libanotis montana* (XXII 3) und *Libanotis sibirica* trugen an zahlreichen Blattabschnitten Pykniden. *Libanotis montana* (XXII 1—XXII 2) und die übrigen Ver-

1) Eine Pflanze an 2 Blättern infiziert.

2) Infizierte Stellen durch Insekten vernichtet.

3) Das gleiche wie bei 2.

Mit diesem Resultate steht dasjenige des folgenden Versuches in Uebereinstimmung.

Die im vorigen Versuch gewonnenen Uredosporen wurden am 14. Juli ausgesät auf:

- Am 4. August trugen *Libanotis montana* (XXIII 1) und *Libanotis sibirica* (XXIII 2) an den meisten Blättern und an einigen Blattstielen zahlreiche Uredosporen, denen am 9. September Teleutosporen vom Typus der *Puccinia Libanotidis* Lindr. folgten.

Beide Versuche bestätigen die Angabe, daß die *Puccinia* auf *Libanotis montana* eine *Brachypuccinia* sei. Aus ihnen ergibt sich, daß sie auf *Libanotis sibirica* übergeht. Ferner läßt sich aus ihnen folgern, daß sie nicht identisch ist mit *Puccinia Angelicae* (Schum.) Fuck. auf *Archangelica officinalis*, mit *Puccinia Conii* (Strauss) Fuck. auf *Conium maculatum*, und daß sie es auch nicht zu sein scheint mit *Puccinia Petroselini* (D.C.) Lindr. auf *Aethusa Cynapium* und mit *Puccinia bullata* (Pers.) auf *Peucedanum palustre* und *Selinum Carvifolia*.

Dieses Resultat bestätigt also die Angaben Lindroths über das Vorkommen der *Puccinia Libanotidis* Lindr., insofern als es zeigt, daß die *Puccinia*, von *Libanotis montana* stammend, auf *Libanotis sibirica* übergeht und sich von fernerer auf anderen Umbelliferengattungen lebenden Formen der früheren *Puccinia bullata* (Pers.) biologisch verschieden zu verhalten scheint. Ferner läßt es uns vermuten, daß *Puccinia* auf *Libanotis*-Arten keine Sammelspecies, wohl aber eine feste Art darstelle. Allerdings, bevor etwas positives in dieser Richtung ausgesagt werden kann, bedarf es noch weiterer Versuche, vor allem mit der Form auf *Lib. sibirica*.

Tabelle zu den Infektionsversuchen XXII–XXIII.

Versuchspflanzen	Infektionsmaterial und Versuchsnummer	
	XXII	XXIII
	Teleutosporen von <i>Lib. montana</i>	Uredosporen von <i>Lib. montana</i>
<i>Libanotis montana</i>	+ * ¹⁾	+
„ <i>sibirica</i>	+	+
<i>Aethusa Cynap.</i>	—	—
<i>Conium maculat.</i>	—	—
<i>Archang. off.</i>	—	—
<i>Peuced. pal.</i>	—	—
<i>Selinum Carvifolia</i>	—	—

Erklärung der Zeichen: + = positiver Erfolg; — = negativer Erfolg; + * = teilweiser Erfolg.

7. *Puccinia Angelicae* (Schum.) Fuck.

Die *Puccinia* auf *Angelica silvestris* wurde schon von älteren Autoren von *Puccinia Bullata* (Pers.) getrennt und als selbständige Art, als *Puccinia Angelicae* (Schum.) Fuck. betrachtet. Zu ihr zog später Lindroth²⁾ die von Blytt beschriebene *Puccinia Archangelicae* auf *Archangelica*-Arten hinzu, weil er zwischen diesen zwei Pilzen keinen konstanten Unterschied finden konnte. Er bemerkt aber dabei, daß die mögliche, biologische Verschiedenheit dieser Formen nur durch Kulturversuche klargestellt werden könne.

Als einen Beitrag zur Lösung des letzteren mögen nun die folgenden Infektionsversuche angesehen werden.

XXIV. Infektionsversuch mit Uredosporen von *Puccinia Angelicae* (Schum.) Fuck., von *Angelica silvestris* stammend.

Am 20. Juni sammelte ich auf *Angelica silvestris* bei Rubigen (Kt. Bern) Uredosporen obiger *Puccinia*. Damit leitete

1) Eine Versuchspflanze infiziert. Die 2 anderen pilzfrei.

2) l. c. p. 95.

ich am 22. Juni einen Infektionsversuch mit den nachstehenden Pflanzen ein:

- | | | |
|----------|---|---|
| XXIV 1. | <i>Angelica silvestris</i> | im Juli 1902 bei Bern ausgegraben und eingetopft. |
| XXIV 2. | " " | |
| XXIV 3. | " " | |
| XXIV 4. | <i>Archangelica officinalis</i> | } gezog. 1903 aus Samen v. Kew. |
| XXIV 5. | " " | |
| XXIV 6. | " <i>littoralis</i> | |
| XXIV 7. | " " | } gezogen 1903 aus Samen v. Kew. |
| XXIV 8. | " <i>decurrens</i> | |
| XXIV 9. | " " | |
| XXIV 10. | " <i>atropurpurea</i> | } gezogen 1903 aus Samen v. Turin. |
| | " " | |
| XXIV 11. | <i>Peucedanum palustre</i> | im Juli 1902 bei Blumenstein (Kt. Bern) ausgegraben und eingetopft. |
| XXIV 12. | <i>Aethusa Cynapium</i> , vom Berner botanischen Garten stammend. | |

Zu diesem Versuche muß bemerkt werden, daß die hier zur Verwendung gelangten Versuchspflanzen im allgemeinen für eine Uredoinfektion sich nicht ganz eigneten, da ihre Blätter der Mehrzahl nach noch zart und jung waren. Deshalb war von vornherein auf den meisten Töpfen eine schwache Infektion zu erwarten.

Am 10. Juli fand die erste Durchmusterung statt, wobei eine Infektion nur an den älteren Blättern festgestellt wurde. Das Ergebnis war folgendes:

XXIV 1 (*Angel. silv.*): 5 Blätter vorhanden, davon eines stärker entwickelt als die übrigen. An ersteren zerstreute junge Uredolager bemerkbar.

XXIV 2 (*Angel. silv.*): 3 Blätter vorhanden, davon 2 stärker entwickelt als das übrige. An ersterem einige junge Uredolager sichtbar.

XXIV 3 (*Angel. silv.*): 3 ältere Blätter vorhanden, die sämtlich mit jungen Uredolagern infiziert sind.

XXIV 4 (*Archangelica off.*): 6 Blätter vorhanden, darunter 2 gut entwickelt. An letzteren einige junge Uredolager bemerkbar.

Die übrigen Versuchspflanzen (XXIV 5—XXIV 12) weisen keine Infektion auf.

Am 22. Juli konnte an den infizierten Exemplaren XXIV 1 bis XXIV 5 eine Vermehrung der Infektion, an den Töpfen XXIV 6 bis XXIV 10 zum erstenmal eine solche, wenn auch nur eine schwache, konstatiert werden.

XXIV 11—XXIV 12 erwiesen sich auch bei dieser zweiten Kontrolle als gesund, was übrigens auch für die letzte Hälfte der Versuchszeit gilt.

Die Durchmusterung vom 22. Juli ergab also einen schönen Erfolg auf *Angelica silv.* und *Archangelica off.* (XXIV 1 bis XXIV 4), einen mittelmäßigen hingegen auf dem 2. Exemplar von *Archangelica off.* und auf den übrigen *Archangelica*-Arten (XXIV 5—XXIV 10), ein Verhältnis, das sich auch bei späteren Kontrollen nicht änderte. Der schwache Erfolg auf den Exemplaren XXIV 5—XXIV 10 läßt sich, wie ich früher bemerkt habe, zurückführen auf eine ungenügende Entwicklung der betreffenden Pflanzen zur Zeit der Sporenauftragung. Teleutosporen

vom Typus der *Puccinia Angelica* (Schum.) Fuck. traten an allen infizierten Versuchspflanzen zum erstenmal am 10. August auf. Am gleichen Tage erwiesen sich ferner die zu diesem Versuche aufbewahrten Versuchspflanzen als gesund.

Aus Versuch XXIV geht also folgendes hervor:

Die *Puccinia Angelicae* (Schum.) Fuck., von *Angelica silvestris* stammend, geht auf *Archangelica officinalis*, *atropurpurea*, *littoralis* und *decurrens* über. Sie scheint nicht identisch zu sein mit der *Puccinia bullata* (Pers.), von *Peucedanum palustre* stammend, und mit der *Puccinia Petroselini* (D.C.) Lindr. auf *Aethusa Cynapium*.

XXV. Infektionsversuch mit Uredosporen von *Puccinia Angelicae* (Schum.) Fuck., von *Angelica silvestris* stammend.

Mit im Versuch XXIV gewonnenen Uredosporen wurden am 22. Juli 1903 nachstehende Versuchspflanzen infiziert:

- | | | |
|---------|---|---|
| XXV 1. | <i>Angelica silvestris</i> | } im Juli 1902 bei Bern ausgegraben und eingetopft. |
| XXV 2. | " | |
| XXV 3. | <i>Archangelica littoralis</i> | } gezogen aus Samen von Kew. |
| XXV 4. | " <i>officinalis</i> | |
| XXV 5. | " | |
| XXV 6. | " <i>decurrens</i> | |
| XXV 7. | " | } gezogen aus Samen von Turin. |
| XXV 8. | " <i>atropurpurea</i> | |
| XXV 9. | " | } gezogen aus Samen von Kew. |
| XXV 10. | <i>Peucedanum palustre</i> | |
| XXV 11. | <i>Aethusa Cynapium</i> , im Herbst 1902 b. Bern ausgegrb. u. eingetopft. | (Schluß folgt.) |

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Freudenreich, Ed. v., Ueber die Bakterien im Kuheuter und ihre Verteilung in den verschiedenen Partien des Melkens. (Schluß), p. 407.

Goslings, N., Ueber schwefelwasserstoffbildende Mikroben in Mineralwässern, p. 385.

Jensen, Orla, Studien über die flüch-

tigen Fettsäuren im Käse nebst Beiträgen zur Biologie der Käsefermente. (Forts.), p. 428.

Pammel, L. H. and Weems, J. B., An investigation of some Iowa disposal systems, p. 395.

Semadeni, Franc. Ottavio, Beiträge zur Kenntnis der Umbelliferen bewohnenden Puccinien. (Schluß), p. 439.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädensweil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof.
Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr.
Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W.50, Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XIII. Band.

Jena, den 10. November 1904.

No. 15.

**Originalreferate aus bakteriologischen u. gärungsphysiologi-
schen etc. Instituten, Laboratorien etc.**

Nachdruck verboten.

Aus der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München.

**Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen
Arten von Bierhefe¹⁾.**

Von H. Will.

VI. Wachstumsform der vier Hefen auf festen Nährböden.

**B. Wachstumsform der Riesenkolonien auf 10-proz.
Würzgelatine mit Zusatz von 0,7 Proz. Asparagin
und 1 Proz. weinsaurem Ammon bei Temperaturen
von 20—12° C.**

Früher, bei anderer Gelegenheit gemachte Beobachtungen ließen
die Voraussetzung zu, daß eine Vermehrung der stickstoffhaltigen

¹⁾ Nach Mitteilungen der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München.
Zeitschr. ges. Brauwesen. Bd. XXVII. 1904. No. 32—38. p. 376—379, 587—590,
607—609, 620—622, 636—637, 654—658, 669—674. Vergl. d. Centralbl. Bd. I.
1895. p. 449; Bd. II. 1896. p. 752; Bd. V. 1899. p. 726; Bd. IX. 1902. p. 135;
Bd. XII. 1904. p. 294.

Substanzen in dem Nährsubstrat nicht nur auf die Formgestaltung der Kolonien, sondern auch auf die Ausbildung der Zellen einen gewissen Einfluß ausübt. Die Kolonien wuchsen etwas üppiger und manche Formerscheinungen auf der Oberfläche, welche bei anderen Substraten nur angedeutet waren, traten bei Vermehrung der Stickstoffnahrung schärfer hervor. Außerdem war es auffällig, wie bei einem reichen Gehalt der Nährflüssigkeit an stickstoffhaltigen Substanzen eine starke Membranverdickung, die häufig die Ablösung einer äußeren Schicht der Haut zur Folge hatte, auftrat.

In der Tat übte auch im vorliegenden Falle die Erhöhung der Menge der stickstoffhaltigen Substanzen einen Einfluß aus. Die Unterschiede in der Formgestaltung sind jedoch nicht prinzipieller Natur. Bei den höheren Temperaturen kommt zu der chemischen Wirkung noch die physikalische Veränderung des Substrates infolge der Zusätze hinzu.

Die ersten Entwicklungsstadien stimmten mit denjenigen der Riesenkolonien auf 10-proz. Würzegelatine überein. Da jedoch die Gelatine bei den höheren Temperaturen weicher als in der Versuchsreihe mit 10-proz. Würzegelatine allein wurde, so wuchsen die Riesenkolonien wesentlich in die Gelatine hinein, während nur ein verhältnismäßig geringer Oberflächenbelag zur Ausbildung gelangte. Die Ränder der Kolonien sämtlicher vier Hefen wuchsen in Form von vielfach verästelten, traubigen Massen in der Gelatine fort. Erst weiter vom Rande der Kolonie entfernt erhob sich der Oberflächenbelag. Infolge dieses Wachstums erscheint die Form sämtlicher Kolonien nach etwa einem Monate gleich: die Ränder sind tief gebuchtet und lappig eingeschnitten. Die Kolonien geben, da die Oberflächenschichten fehlen, ein sehr übersichtliches Bild der Entwicklung der Ströme und ihrer Anhänge.

In bemerkenswerter Weise und den Voraussetzungen der Versuchsanstellung entsprechend, hatten die Kulturen von Stamm 2 auf Würzegelatine mit Zusatz von weinsaurem Ammon kleine Höcker und warzenförmige Auswüchse auf der Oberfläche des Walles zwischen der zentralen und der Randpartie ausgebildet. Ähnliche Auswüchse erschienen auch in ziemlich großer Anzahl auf dem Wall der Riesenkolonien von Stamm 93.

Bei Stamm 2 traten die gleichen Bildungen, wenn auch nicht in dem ausgedehnten Umfange, schon an den Riesenkolonien auf Würzegelatine auf; bei Stamm 93 waren sie eben nur angedeutet.

Bei niedriger Temperatur entwickelten sich innerhalb $2\frac{1}{2}$ Monaten die Riesenkolonien in normaler Weise. Aus den zahlreichen bei diesen Temperaturen angestellten Beobachtungen geht ebenfalls hervor, daß durch den Zusatz von Asparagin ein günstiger Einfluß auf die Entwicklung der Kolonien ausgeübt wurde. Auch ein gewisser Einfluß auf die Formgestaltung der Kolonien, wenn derselbe auch nur ein sehr geringer war, machte sich geltend.

Die bei niedriger Temperatur auf den vorliegenden beiden Nährsubstraten gewachsenen Riesenkolonien von Stamm 2 unterschieden sich durch die große Anzahl der höckerigen und warzigen

Auswüchse nicht nur von den auf Würzegeatine entwickelten, sondern auch von denjenigen des Stammes 93 auf Würzegeatine mit Zusatz von Asparagin und weinsaurem Ammon, während Stamm 93 und Stamm 2 auf Würzegeatine übereinstimmen.

Der Habitus der Riesenkolonien von Stamm 6 zeigte sowohl Uebereinstimmung mit demjenigen der Kolonien auf Würzegeatine, als auch eine Abweichung insofern, als die zentrale Partie hier nicht gekräuselt, sondern glatt oder höchstens ungemein fein gekörnt war.

Der Aufbau der Riesenkolonien stimmte in allen wesentlichen Zügen mit demjenigen der auf Würzegeatine allein gewachsenen völlig überein. Ebenso bestand völlige Uebereinstimmung hinsichtlich des Verhaltens der Oelkörperchen gegenüber konzentrierter Schwefelsäure.

Die höckerigen und warzigen Auswüchse, welche auf dem Wall und der Randpartie wie auf den Riesenkolonien auf 10-proz. Würzegeatine sitzen, bestehen, soweit meine Untersuchungen reichen, nur aus im allgemeinen rundlichen Zellen. Es scheinen nur lokale Wucherungen der Rindenschicht zu sein.

Die warzigen Auswüchse bei Stamm 2 und 93 und die Kräuselung der Oberfläche bei Stamm 6 sind auf die gleiche Erscheinung zurückzuführen.

Bei Stamm 6 erfolgt diese starke lokale Vermehrung in der Regel schon unter gewöhnlichen Umständen, bei Stamm 2 und 93 jedoch erst unter besonderen Verhältnissen.

Die höckerige und warzige Beschaffenheit der Oberfläche der Riesenkolonien ist also auf zwei verschiedene Ursachen zurückzuführen: erstens auf eine lokale Wucherung der Zellen der Rindenschicht, zweitens auf die lokale Vermehrung eines neuen Zellelementes, der dicken wurstförmigen Zellen und deren Hervortreten über die Oberfläche.

Bei Stamm 2 und 93 besitzen die Anhänge der Unterseite in Würzegeatine allein in der Regel Warzenform, in Würzegeatine mit Zusatz von Asparagin und weinsaurem Ammon sind sie jedoch bei Stamm 93 den traubenförmigen vom Stamm 6 mehr oder weniger ähnlich. Nicht unwahrscheinlich kommt hier ein Einfluß der Zusätze, welche, wie erwähnt, eine üppigere Entwicklung der Riesenkolonien überhaupt bedingen, zum Ausdruck.

C. Wachstumsform der Riesenkolonien auf Würzeagar und Würzeagargelatine.

Wenn eine Riesenkolonie in ihrer vollen Schönheit und charakteristischen Wachstumsform mit all den Zellelementen, welche im Kreise der Entwicklung einer Hefekultur zur Ausbildung gelangen können, in die Erscheinung treten soll, so ist in erster Linie eine Nährlösung von geeigneter Zusammensetzung notwendig. Bierwürze, Hefezuckerwasser und Nährlösungen von ähnlicher Zusammensetzung und Konzentration, in welchen die Hefen Kahlhäute mit allen ihren charakteristischen Elementen zu entwickeln

vermögen, eignen sich auch, wie die Erfahrung 'gezeigt hat, am besten zur Darstellung von Riesenkolonien.

Ein Unterschied besteht allerdings zwischen der Kahlhautbildung auf Nährflüssigkeiten wie Bierwürze und Hefezuckerwasser und den Riesenkolonien auf festem Substrat, dem die gleichen Nährflüssigkeiten als Grundlage dienen.

Die Hefeinseln, die Kahlhautanfnge entstehen in der Regel erst dann, wenn die Nährflüssigkeit bis zu einem Grade vergoren ist, nachdem sich in erster Linie große Mengen von Zellen der Alkoholgärungsform gebildet haben.

Bei der Entwicklung der Riesenkolonien vermehren sich allerdings die auf das feste Substrat aufgetragenen Zellen der Bodensatzhefe, der Alkoholgärungsform, zwar auch noch bis zu einem gewissen und, wie gezeigt wurde, bei verschiedenen Hefen verschiedenem Grade; es findet auch, wie nach den zuweilen in der Unterlage sich ansammelnden Gasblasen geschlossen werden darf, auch noch eine gewisse Gärung statt. Von vornherein könnte wohl angenommen werden, daß die Alkoholgärungsform, die unter diesen Verhältnissen gewissermaßen keine Existenzberechtigung hat, nicht vor den wesentlich an der Luft sich entwickelnden Kahlhautgenerationen, welche gewöhnlich die Hauptmasse der Riesenkolonien zusammensetzen, dominiert.

Für alle für die Entwicklung von Riesenkolonien geeignete Nährlösungen, welche mit Gelatine gemischt sind, trifft das im allgemeinen zu. Die Beobachtungen haben jedoch gezeigt, daß diese Voraussetzungen nicht mehr zutreffen, sobald an Stelle der Gelatine Agar als Zusatz zur Nährlösung verwendet wird.

Durch Agar scheint Bierwürze viel weniger fest gebunden zu werden als durch Gelatine.

Es läßt sich nun sehr wohl denken, daß infolge dieser lockeren Bindung die auf Würzeagar aufgetragene Alkoholgärungsform der Hefe viel günstigere Bedingungen vorfindet und sich infolgedessen auch stärker und länger andauernd vermehrt als auf Würzegeatine.

Ausgeschlossen ist allerdings nicht, daß durch die Gelatine noch andere Momente, wie beispielsweise eine veränderte Reaktion, in das Nährsubstrat eingeführt werden, doch scheinen mir dieselben zunächst nicht die Bedeutung wie die innigere Bindung der Nährlösung durch die Gelatine zu haben.

Die physikalischen Eigenschaften des Substrates beeinflussen sicher die Wachstumsform der Riesenkolonien.

Wenn aber in den Riesenkolonien auf Würzeagar die Alkoholgärungsform vorherrscht, so muß auch die Wachstumsform derselben eine andere werden als auf Würzegeatine, auf welcher die Kahlhautgenerationen vorherrschen.

Um eine der 10-proz. Würzegeatine ähnliche Konsistenz des Substrates zu gewinnen, wurden nach mehrfachen Vorversuchen einer Würze von 14,2 Bllg. einerseits 4 Proz. pulverisiertes Agar zugesetzt, andererseits erhielt die gleiche Würze einen Zusatz von 2 Proz. Agar und 3 Proz. Gelatine.

Während die Kolonien auf 4 Proz. Agar, welche eine inten-

sivere Gärung hervorgerufen hatten, nach 3 Tagen (irgendwelche Erscheinungen, welche auf eine bereits vorhandene Strombildung schließen ließen, nicht zeigten, waren an der Randpartie derjenigen auf 2 Proz. Agar + 3 Proz. Gelatine bei den verschiedenen Hefen in verschiedenem Grade schon eine Streifung und damit eine beginnende Strombildung sichtbar.

Der schon am 3. Tage konstatierte Unterschied der jungen Riesenkolonien in den beiden Versuchsreihen bestand auch am 7. Tage bei Stamm 2, 7 und 93 noch. In der Versuchsreihe auf 2 Proz. Agar + 3 Proz. Gelatine waren sogar nicht nur Ströme, sondern auch Wallbildung angedeutet. Bei Stamm 7 besaß die Wachstumsform sehr große Ähnlichkeit mit derjenigen auf 10-proz. Würzegelatine. Die Riesenkolonie von Stamm 6 auf 4-proz. Würzeagar besaß an der Randpartie der im übrigen wie bei den anderen drei Hefen völlig glatten Oberfläche eine Ausbildung, welche im Gegensatz zu Stamm 2 und 93 schon an Strombildung erinnerte. In noch höherem Grade war dies bei den Kolonien auf 2 Proz. Agar + 3 Proz. Gelatine der Fall. Die scharf erkennbaren Ströme waren in Uebereinstimmung mit den Riesenkolonien auf 10-proz. Würzegelatine geteilt. In gleicher Weise war auch Wallbildung angedeutet. Alle Riesenkolonien bestanden aus einem mehr oder minder gleichmäßigen, an den Rändern schwach gebuchteten, flachen Hefebelag, der im Gegensatz zu den Kolonien auf 10-proz. Würzegelatine schleimig-schmierige Beschaffenheit besaß.

Auch im weiteren Verlaufe der Beobachtung, die bis auf $3\frac{1}{2}$ Monate, bei Stamm 93 auf $4\frac{1}{2}$ Monate ausgedehnt wurde, änderte sich das Aussehen der Kolonien nicht wesentlich. Sie hatten den Höhepunkt der Entwicklung bald erreicht.

An solchen Stellen des Nährbodens, welche, wie in der Umgebung von Rissen, offenbar etwas stärker eingetrocknet waren, gelangten ganz unzweideutig echte Ströme von demselben Bau wie auf 10-proz. Würzegelatine zur Ausbildung.

Es scheint also nicht nur die abnehmende Menge und Qualität der dargebotenen Nahrung, sondern auch die zunehmende Dichte des Substrates, welche ihrerseits einen Einfluß auf die Bindung derselben ausübt, auf die weitere Formgestaltung der Riesenkolonien maßgebend zu sein.

An der Oberfläche der älteren Kolonien machten sich Veränderungen nach zwei Richtungen hin geltend. Die eine war offenbar auf die immer schärfer ausgebildeten Ströme, die andere auf Neubildungen zurückzuführen. Es trat nämlich in den älteren zentralen Partien eine Körnelung auf, hervorgerufen durch schwache, flache, mehr oder weniger rundliche Erhebungen, die auch in eine Kräuselung überging.

Diese Kräuselung der Oberfläche ist mit der Kräuselung, wie sie bei den Riesenkolonien von Stamm 6 aus Bodensatzhefe und Kahlhautzellen 1. Generation auf Würzegelatine und bei Stamm 7 hauptsächlich an den Riesenkolonien aus Kahlhautzellen 1. Generation, aber auch zuweilen an denjenigen von Bodensatzhefe auftreten, nicht identisch, sie geht aus „Schleimkratern“ hervor.

Der Grundplan, nach welchem die Riesenkolonien auf 4-proz. Würzeagar und 3-proz. Würzegeatine mit 2 Proz. Agar aufgebaut sind, ist der gleiche wie bei den Riesenkolonien auf 10-proz. Würzegeatine; der Unterschied ist nur der, daß eine Verschiebung des gegenseitigen Mengenverhältnisses der die Kolonien aufbauenden Zellelemente stattfindet. Während in den Riesenkolonien auf 10-proz. Würzegeatine die Zellen, welche ich als zur Gruppe der Kahlhautzellen 1. Generation gehörig betrachte, vorherrschen, treten diese in den Kolonien auf Würzeagar mit Agar und noch mehr in den Kolonien auf Würzeagar allein zurück.

Der Unterschied in dem anatomischen Aufbau macht sich sehr frühzeitig bemerkbar.

In dem Hefebelag sind Nester von Sproßverbänden derber, wurstförmiger Zellen eingestreut, welche wahrscheinlich die Ausgangsstelle der warzigen Erhebungen und der Kräuselung der Riesenkolonien bilden. Diese Nester fanden sich in den Kolonien auf 2-proz. Agar mit 3 Proz. Gelatine häufiger als in denjenigen auf 4-proz. Agar.

Die Kräuselung der Oberfläche der Kolonien, sowie in der Umgebung der Schleimkrater bestehen aus Sproßverbänden oft sehr lang gestreckter Zellen, welche auch die flachen und warzigen Erhebungen der gekörnten Oberfläche zusammensetzen.

Es treten also auf der ganzen Oberfläche der älteren Partien der Riesenkolonien Erscheinungen auf, welche bei den Kolonien auf 10-proz. Würzegeatine nur in der zentralen Partie beobachtet werden.

Die Kolonien sind wie diejenigen auf 10-proz. Würzegeatine mit großen Büscheln von Sproßverbänden wurstförmiger Zellen (rhizoidengleiche Anhänge), welche in der Regel, mindestens aber bei den Kolonien auf 2 Proz. + 3 Proz. Gelatine und sehr scharf ausgeprägt bei allen Kolonien an der Randpartie deutlich radial angeordnet erscheinen, mehr oder minder tief in das Substrat hineingewachsen.

Die unmittelbar dem Substrat aufliegenden Schichten des Hefebelages bestehen bei allen Hefen aus Zellen, welche nach ihrer Form und Größe, sowie ihrer Beschaffenheit mehr den Charakter der Kahlhautzellen 1. Generation tragen. Die Verhältnisse sind genau die gleichen wie an der Unterseite der Riesenkolonien auf 10-proz. Würzegeatine. Die schon mehrfach an anderen Stellen betonte Besonderheit von Stamm 7 kam auch hier wieder zum Ausdruck.

Es sind also in den Riesenkolonien Kahlhautzellen 1. Generation vorhanden, sie kommen jedoch gegenüber den Zellen der Alkoholgärungsform zunächst nicht zur Geltung und können deshalb auch auf die Formgestaltung der Kolonien keinen wesentlichen Einfluß ausüben. Die Entwicklung der Riesenkolonien vollzieht sich also unter den gegebenen Verhältnissen viel mehr in dem Sinne von gewöhnlichen Würzekulturen als von denjenigen auf 10-proz. Würzegeatine.

(Schluß folgt.)

Referate.

Dangeard, Nouvelles considérations sur reproduction sexuelle des champignons supérieurs. (Le Botaniste. Série IX. 10 décembre 1903.)

Verf. stellt die verschiedenen Arbeiten über die Sexualität der höheren Pilze zusammen. Er hält die Verschmelzung der Kerne in der Basidie, welche von Sappin, Trouffy, Rosénvinge, Rosen, Wager, Juel, Harper, Maire, Ruhland und ihm selbst aufgestellt ist, für eine echte Befruchtung.

Bei den Ascomyceten wird diese Frage noch erörtert, denn außer den Kernverschmelzungen, welche der Bildung des Ascus vorausgehen, haben Harper und Barker bei einer gewissen Zahl von Arten eine echte Befruchtung im Moment der Bildung des Peritheciums beschrieben. Der Verf. hat in früheren Arbeiten gezeigt, daß bei *Sphaerotheca Castagnei*, *Pyronema confluens*, *Monascus Barkeri*, *Ascodesmis* die Antheridie degenerierte und das Oogon nicht befruchtete; er betrachtet also diese Organe als eine Spur von einer untergegangenen geschlechtlichen Reproduktion; die wirkliche Befruchtung käme somit in den Mutterzellen der Asken zustande.

Der Verf. studiert die Karyokinese bei *Pyronema confluens* und versucht sich über das Stadium klar zu werden, in dem die chromatische Reduktion stattfindet. Er beobachtet eine Karyokinese analog der von Harper beschriebenen; aber während Harper ein zehntes Chromosom gezählt hatte, findet er nur vier. Er findet dieselbe Zahl bei *Borreria ciliaris*, *Endocarpon miniatum*, *Ascodesmis nigricans*, *Sphaerotheca Castagnei* und *Ascobolus furfurascens*. Gestützt auf diese Tatsache und die Beobachtung Maires bei *Galactinia sucosa*, die gleichfalls vier Chromosomen besitzt, hält der Verf. diese Anzahl für die allen Ascomyceten gemeinsame. Die Basidiomyceten haben nach Maire alle zwei Chromosome, die Ascomyceten hätten demnach vier.

Der Verf. hat nicht die der Bildung des Ascus vorausgehenden Teilungen verfolgen können und kann sich nicht endgültig über das Reduktionsstadium aussprechen; doch denkt er, daß diese Reduktion mit der Reife der Asken vor sich geht, denn er glaubt, vier Chromosomen bei einer Mitose der Mutterzelle einer Konidiophore von *Sphaerotheca Castagnei* bemerkt zu haben.

Guilliermond (Lyon).

Stutzer, Die Nutzbarmachung des Stickstoffs der Luft für die Pflanzen. (Deutsche landw. Presse. 1904. No. 10, 11, 12, 17 und 19.)

Verf. gibt in seinen Darlegungen einen Ueberblick über den gegenwärtigen Stand der wichtigen Frage der Festlegung des gasförmigen Luftstickstoffs in Form festgefügter chemischer Verbindungen. Die hierbei in Betracht kommenden Vorgänge bakteriologischer Art werden eingehend besprochen.

Verf. weist zunächst auf die wichtigsten Eigenschaften der stickstoffbindenden Bodenbakterien, vor allem der in den letzten Jahren näher studierten *Azotobacter*-Arten hin, und legt die für die praktische Landwirtschaft aus der Tätigkeit dieser Organismen entspringenden Vorteile dar. St. betont, daß diese Lebewesen eine bedeutende Menge von Energie aufwenden müssen, um den elementaren Stickstoff festzulegen, und daß sie daher stets reichliche Quantitäten stickstofffreier organischer Nährstoffe zur Verfügung haben müssen. Es hat sich gezeigt, daß die günstigen Resultate, welche der Landwirt durch energische Durchlüftung und Lockerung der Ackerkrume, besonders bei dichten Bodenarten, erzielt, auf die starke Vermehrung und dadurch bedingte erhöhte Festlegung von Luftstickstoff durch diese sehr sauerstoffbedürftigen Mikroorganismen zurückzuführen ist. Ein ausgezeichnetes Mittel, um den Ackerboden durch die Tätigkeit von stickstoffsammelnden Bakterien zu verbessern, ist die Brache, und Verf. hält diese in manchen Fällen auch heute noch für vorteilhaft, wenngleich sie durch die beständig zunehmende Verwendung der künstlichen Düngemittel an Bedeutung verloren hat. Bei der Schwarzbrache wird der Boden häufig und gründlich durchlüftet, die Vermehrung der stickstoffsammelnden Bakterien daher außerordentlich unterstützt.

Verf. kommt alsdann auf die Verwertung des atmosphärischen Stickstoffs durch die Leguminosen zu sprechen und erläutert die Beziehungen, welche zwischen den Knöllchenbakterien und ihren Wirtspflanzen bestehen. Die Leguminosen versehen ihre Knöllchenbakterien mit Kohlehydraten und liefern ihnen dadurch die zur Bindung des Stickstoffs erforderliche Energie, dagegen bilden die Knöllchenbakterien durch Stickstoffassimilation Eiweißstoffe und stellen diese der höheren Pflanze zur Verfügung. Wie die frei lebenden stickstoffbindenden Bakterien, weisen auch die Knöllchenbakterien je nach ihren äußeren Lebensbedingungen verschiedene Grade von stickstoffbindender Energie auf. Verf. weist auf die Bemühungen der Agrikulturbakteriologen hin, die Virulenz der hier in Frage kommenden Organismen zu erhöhen, geht dabei etwas näher auf die in dieser Richtung besonders wichtigen neueren Forschungen Hiltners ein und teilt das von Hiltner auf Grund seiner Erfahrungen für die landwirtschaftliche Praxis empfohlene Impfverfahren für Leguminosen mit.

St. beschäftigt sich alsdann mit dem zum Zwecke der Gründung vorgenommenen Anbau von Hülsenfrüchten. Die Gründung ist im allgemeinen nur bei leichten Böden von Vorteil, in manchen Fällen ist sie jedoch auch für schwerere, bessere Bodenarten empfehlenswert, nämlich dann, wenn die Böden arm an Humus und Stickstoff sind, wenn ausgedehnter Hackfruchtbau getrieben wird und der Vorrat an Stalldünger gering ist. Wesentlich ist, daß die Aussaat der Leguminosen vor dem 1. August erfolgt, weil sonst auf ein gutes Gedeihen der Pflanzen nicht mehr zu rechnen ist. Verf. empfiehlt die blaue Lupine, welche große Mengen organischer Substanz bildet, viel Stickstoff aus der Luft aufnimmt und dabei ein guter Tiefwurzler ist, als ausgezeichnete Gründungs-

pflanze. Von größter Bedeutung ist es nun, den durch den Gründünger in den Boden gebrachten Stickstoff möglichst vollständig für die darauffolgenden Kulturpflanzen nutzbar zu machen, und hier ist die Zeit und die Art des Unterpflügens von großer Wichtigkeit. Verf. ist der Ansicht, daß der Stickstoff der Gründüngungspflanzen besser zur Wirkung kommt, wenn das Unterpflügen spät bei niedriger Bodentemperatur erfolgt, oder wenn sogar die vollständig erfrorene Pflanzenmasse in den Boden gelangt, weil dann vornehmlich Fäulnisbakterien, weniger Fadenpilze und Streptothrix-Arten an der Zersetzung der untergepflügten organischen Massen teilnehmen. Die höheren Pilze, welche den Stickstoff des Gründüngers in schwer lösliche Form überführen, gedeihen bei niedrigen Temperaturen nur mangelhaft, bei spätem Unterpflügen vermeidet man daher die durch diese Organismen bewirkten unvorteilhaften Zersetzungen.

Die beste Ausnutzung des Gründüngers erfolgt durch Hackfrüchte, Körnerfrüchte ziehen andere Stickstoffformen vor.

Zum Schlusse erwähnt Verf. noch die Bestrebungen, welche dahin zielen, den Stickstoff der Luft mittels Chemie und Elektrizität in feste Verbindungen überzuführen, und welche in neuerer Zeit durch die in großem Maßstabe bereits durchgeführte Gewinnung von Calciumcyanamid — als Rohprodukt Kalkstickstoff genannt — einen wesentlichen Fortschritt zu verzeichnen haben.

Vogel (Posen).

Causemann, Einiges zum Schlußartikel des Herrn Prof. Dr. Stutzer über die Nutzbármachung des Luftstickstoffs. (Deutsche landw. Presse. 1904. No. 28.)

Verf. widerspricht der von Stutzer geäußerten Ansicht, daß es am zweckmäßigsten sei, die schon vollständig erfrorene Gründüngermasse unterzupflügen. Nach seinen Erfahrungen ist die Düngewirkung einer noch vollaftigen, grünen Pflanzenmasse eine weit bessere, und auch die Einwirkung eines solchen, noch in hohem Maße gärfähigen Düngers auf die physikalische Beschaffenheit des Bodens eine günstigere. C. tritt auch der Behauptung Stutzers entgegen, daß der Gründüngerstickstoff am besten von Hackfrüchten, weniger gut von Körnerfrüchten ausgenutzt werde. Er verweist auf die Ergebnisse der Versuche von Bässler und Schneidewind, welche einerseits eine sehr befriedigende Gründüngerverwertung durch nachfolgenden Roggen, andererseits eine sehr geringe Ausnutzung des in solcher Form gebotenen Stickstoffs durch Kartoffeln ergaben.

Vogel (Posen).

Nobbe u. Richter, Ueber die Nachwirkung einer Bodenimpfung zu Schmetterlingsblütlern auf andere Kulturgewächse. (Die landw. Versuchsstationen. Bd. LIX. 1904. p. 174.)

Die Verff. beschreiben zwei Vegetationsversuche, welche den Zweck hatten, festzustellen, ob der Ertrag der auf Hülsenfrüchte folgenden Halmgewächse durch die Menge der Wurzelrückstände der Leguminosen beeinflusst wird. Bei beiden Versuchen war Hafer,

der nach im Vorjahre mit Knöllchenbakterien geimpften Zottelwicken in Vegetationsgefäßen angebaut wurde, in denjenigen Fällen zur stärksten Entwicklung gekommen, wo auch der Hülsenfruchtertrag der größte gewesen war. Dieses kräftigere Wachstum der Haferpflanzen in den im Vorjahre geimpften Vegetationsgefäßen ist ohne weiteres durch den höheren Gehalt der betreffenden Erden an Wurzelstickstoff zu erklären. Vogel (Posen).

Wichmann, H., Notiz zur Lebensdauer der Kulturhefe. (Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation. Jahrg. XXXII. 1904. No. 6.)

Auf Grund von Beobachtungen kommt Verf. zu der Ansicht, daß die längere Lebensdauer der in dem auf der Oberfläche der Kulturen in Bierwürze an der Glaswandung sich zeigenden Heferinge enthaltenen Zellen auf günstigeren Vegetationsbedingungen an der Oberfläche der Nährlösung beruht. Er gibt hierdurch eine Erklärung für die Behauptung Hennebergs, gemäß welcher die Zellen auf der Oberfläche länger leben als die auf dem Boden des Gefäßes befindlichen. Kausch (Charlottenburg).

Wender, N. und Lewin, D., Studien über die Triebkraft der Hefe. (Oesterr. Brennereiztg. Jahrg. II. 1904. No. 7, 8, 9, 10, 11, 13.)

Die Verff. haben eingehende Studien über die Triebkraft der Hefe, welche eine Funktion der durch die Spaltung des Zuckers als auch durch Selbstgärung der Hefe produzierten Kohlensäure, sowie der übrigen im Teige vorhandenen Gase und flüchtigen Stoffe ist, gemacht. Diese ist abhängig von der in der Zeiteinheit entwickelten Gesamtkohlensäure, von der Temperatur und somit von der Spannkraft des Kohlensäuregases, von der Menge der im Teige vorhandenen Stoffe (Alkohol u. s. w.) und endlich von der Beschaffenheit des Mehles bzw. Teiges. Es wurde untersucht, die infolge der Hefe auftretende Kohlensäureentwicklung, die Mehlgärung, Teiggärung, ferner wurden Backversuche angestellt, sowie die Triebkraft verschiedener Hefen, der Einfluß der Temperatur und der Beschaffenheit des Mehles und des Teiges festgestellt. Endlich studierten die Verff. die Enzyme der Preßhefe und ihre Bedeutung für die Triebkraft derselben und besprechen zum Schluß den Einfluß der Ernährung und die Selbstgärung der Hefe. Die unter Berücksichtigung der gesamten einschlägigen Arbeiten auf diesem Gebiete zusammengestellte Arbeit führt zu den folgenden Schlußfolgerungen:

Triebkraft ist die Fähigkeit der Hefe, den Teig hochzuheben und ein voluminöses Gebäck zu liefern. Alle flüchtigen Produkte, die sich während der Gärung entwickeln, wirken beim Aufgehen des Teiges mit. Die Triebkraft der Hefe ist um so größer, je größer ihre Gärungsenergie ist. Die Teiggärung und Backversuche eignen sich am besten zur Feststellung der Triebkraft. Geringe Triebkraft besitzen die untergärigen Brauereihefen, trotz ihrer hohen Gärkraft. Sie sind daher als Backhefen minderwertig.

Während des Aufgehens des Teiges erfolgt die Hauptgärung; der gesamte Vorrat an leicht vergärbaren Zuckerarten wird in Alkohol und Kohlensäure gespalten. Letztere bewirkt, unterstützt von den bei der Selbstgärung des Mehles und der Hefe gebildeten Gasen, das Aufgehen des Teiges. Die geringere Triebkraft der Bierhefen beruht auf ihrer geringeren Widerstandskraft gegen höhere Temperaturen und ihrem Freisein von diastatisch vorkommenden Enzymen. Für die Praxis ist es erforderlich, für die Erzielung triebkräftiger Hefen Rassen zu züchten, die widerstandsfähig gegen hohe Temperaturen sind und Dextrine vergärende Enzyme enthalten. Die Anwendung diastasereicher Maischen oder Würzen erscheint vorteilhaft.

Kausch (Charlottenburg).

Wender, Neumann, Ueber Sauerstoffgärung. [Vortrag, gehalten auf dem Kongreß der Spiritusgroßindustrie, Wien.] (Oesterr. Brennerzeitg. Jahrg. II. 1904. No. 14 u. 15.)

Der Vortragende gibt einen Ueberblick über die Arbeiten Yoshidas, Bertrands, Bourquelots, Tolomeis, Buchners, Effronts, Grüss', Raciborskis, Ostwalds, Löws, Heyducks, Baus, Hennebergs und Fischers, welche die Oxydasen (die Sauerstoff auf oxydable Körper übertragenden Enzyme) und ihre Wirksamkeit behandeln, und kommt zu folgenden Schlußfolgerungen:

Die unter- und obergärigen Hefen enthalten ein Wasserstoff-superoxyd kräftig zersetzendes Enzym, die Hefekatalase. Diese ist nur innerhalb der Zelle wirksam und läßt sich aus der unverletzten Zelle nicht extrahieren. Ihre katalytische Wirkung wird durch Abtöten der Hefezelle nicht aufgehoben. Die Hefekatalase kann in trockenem Zustande auf 100° erhitzt werden, ohne unwirksam zu werden. In feuchtem Zustande verliert das Enzym jedoch schon bei 68—70° C seine Wirksamkeit. Proteolytische Enzyme wirken auf die Hefekatalase nicht ein, während die allgemeinen Enzymgifte zumeist auch ihre Wirkung vernichten.

Von der Wirkung der Oxydasen kann man sich zur Zeit nachstehende Vorstellung bilden:

Der in die Zellen eintretende Sauerstoff wird von den Aëro-oxydasen zum Verbrennen leicht oxydierbarer Körper verbraucht. Es bilden sich intramediär Peroxyde, welche durch Peroxydasen auf brennbare Körper übertragen werden. Durch diese Oxydationsvorgänge wird einerseits die ehemische in eine vitale Energie umgewandelt und andererseits Plasmagifte zerstört, wodurch die normale Funktion der lebenden Zelle geschützt wird.

Der Vortragende ist der Ansicht, daß diese Vorgänge mit Recht als „Sauerstoffgärung“ bezeichnet werden können.

Kausch (Charlottenburg).

Will, H. und Braun, R., Bemerkungen zu der Mitteilung von Hjelte Claussen: Ueber die Sarcinakrankheit des Bieres und ihre Erreger. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. Jahrg. XXVII. No. 26.)

Verff. weisen auf Grund von Versuchen darauf hin, daß die

Sarcinafrage nicht so einfach zu liegen scheint, wie es nach den Angaben von Claussen den Anschein hat.

Kausch (Charlottenburg).

Coupin, H. u. Friedel, S., Sur la biologie du *Sterigmatocystis versicolor*. (Compt. rend. de l'Acad. des sciences. T. CXXXVIII. p. 1118.)

St. versicolor bedarf zu seiner Entwicklung derselben Nährstoffe wie *St. nigra*, d. h. C, N, P, S, K und Mg. Die Abwesenheit eines dieser Elemente hat beträchtliche Schädigung des Pilzes zur Folge. Während aber *St. nigra* eines sauren Mediums bedarf, um gut fortzukommen, genügt beim *St. versicolor* die Anwesenheit schon einer geringen Menge Weinsäure um die Entwicklung zu verlangsamen und Sporenbildung zu verhindern. Fehlt bei Gegenwart von Weinsäure zugleich irgend eines der mineralischen Nährelemente, so tritt überhaupt kein Wachstum ein, während im gleichen Falle bei Abwesenheit von Weinsäure, ein spärliches Fortkommen zu beobachten ist. Das Mycel von *St. versicolor* besitzt eine rostbraune Färbung und gibt an das Nährmedium einen Farbstoff ab, der für ein bestimmtes Nährmittel konstant ist und von einem hellen Gelb bis zum intensivsten Karmin wechseln kann, und zwar wird die Färbung um so tiefer, je mehr das Mycel sich entwickelt. In einem schwachsaureren Nährmittel ist das Pigment gelb, in einem neutralen orange und in einem alkalischen rot. Der Farbstoff ist in Alkohol löslich und behält in dieser Lösung seine Empfindlichkeit gegen Reaktionswechsel, so daß er sich als Indikator eignen würde. Bei Abwesenheit von Magnesium besitzen die Sporen eine rötlich-graue Färbung, während sie gewöhnlich schön grün sind. Fehlt das Ralium, so nehmen die Kulturen charakteristische Form an, indem sich kleine becherförmige Individuen bilden, die auf der Oberfläche der Flüssigkeit schwimmen.

Koeppen (Hannover).

Vuillemin, P., Sur les variations spontanées du *Sterigmatocystis versicolor*. (Comptes rendus de l'Académie des sciences. T. CXXXVIII. p. 1350.)

Stigmatocystis versicolor verdankt seinen Namen der bald grünen, bald roten Farbe seiner Konidien. Außerdem ist die Farbe der Kulturen noch durch eine von dem Mycel ausgeschiedene Flüssigkeit modifiziert, welche sich auf dem Substrat ausbreitet und selbst die Filamente durchdringen kann. Im Gegensatz zu dem Pigment der Sporen ist das Sekret in Alkohol löslich und wechselt seine Farbe je nach der Reaktion des Nährmediums. Die Verschiedenheit der Färbung der Konidien hat wohl eine kompliziertere Ursache, die bisher nicht aufgefunden werden konnte. Die rosa Rasen treten als isolierte Büschel mitten in den grünen Kulturen, oder als gleichmäßiger Saum um dieselben auf. Durch getrenntes Abimpfen auf dieselben Nährböden und unter dem Einfluß derselben Temperatur, und gleichartigen Luftzutrittes, gelingt es, die grüne und die rosafarbige Varietät jede für sich zu kultivieren,

indessen erscheint nach einer sehr wechselnden Frist die normale grüne Form wieder unter den rosa Rasen und umgekehrt. Versuche, welche Fräulein Mirsky auf Veranlassung des Verf. unternahm, zeigten, daß der Farbenwechsel der Konidien des *St. versicolor* von Bedingungen abhängig ist, die von dem Nährmedium nicht unmittelbar beeinflußt werden. Koeppen (Hannover).

Kornauth, Karl, Ueber im Jahre 1903 beobachtete Pflanzenkrankheiten. (Zeitschr. f. d. Landw. Versuchswesen in Oesterreich. 1904. p. 159.)

Der Bericht hebt hervor, daß im Jahre 1903 an die k. k. landwirtschaftlich-bakteriologische Pflanzenschutzstation in Wien 151 tierische und 144 pflanzliche Objekte zur Bestimmung einlangten und außerdem 440 Anfragen zu erledigen waren, Zahlen, die im Interesse des Pflanzenschutzes nicht befriedigen. Die eingelaufenen Objekte werden namentlich hervorgehoben. Besonders interessant davon ist das Auftreten von *Peronospora Cubensis* auf Cucurbitaceenblättern in einem Treibhaus in Wien, nachdem diese Form bis jetzt nur für Amerika beschrieben worden ist, wo sie in den Gurkenpflanzungen großen Schaden anrichtet. Ferner wurde eine mit knollenförmigen Auswüchsen besetzte Gurkenwurzel untersucht, an der in großen Mengen eine Milbe (*Histiostoma Feroniarum*) und in den Knollen selbst eine Nematode (*Heterodera radiculicola*?) vorgefunden wurden; beachtenswert erscheint, daß diese Krankheitserscheinung nicht konform ist mit der gewöhnlich von *Heterodera radiculicola* hervorgerufenen. Interessant sind ferner als Mißbildung eine eigentümliche Karnifikation der Blüten von *Vitis vinifera* und eine sehr interessante Form von Phyllose und Durchwachsung im Blütenstand einer *Dianthus*-Art. In einer Gartenanlage in Istrien trat auf jungen Catalpastämmchen *Diaspis pentagona* auf und es gelang auch, den Infektionsort, eine Baumschule, ausfindig zu machen. In derselben und einer daranstoßenden Allee waren nahezu alle Pflanzen von *Diaspis pentagona* befallen. Durch radikale Bekämpfungsmittel wurde der Schädling gänzlich vernichtet. Eine frühere Verschleppung von der Baumschule aus hat nicht stattgefunden. Der vorliegende Fall beweist schlagend die Notwendigkeit einer ständigen und möglichst umfangreichen Berichterstattung über das Auftreten von Schädlingen der Kulturpflanzen, um sich gegen die Einschleppung von Pflanzenschädlingen aus dem Auslande zu sichern. Stift (Wien).

Cuboni, G. e Meglola, G., Sopra una malattia infesta alle culture dei funghi mangerecci. (Rendiconti d. Accademia d. Lincei. [5.] Vol. XII. 1903. p. 417—422.)

Der Champignonbau in der römischen Campagna wird von *Monilia fimicola* Cost. e Matr. geschädigt. Die Misthaufen bedecken sich im Frühling mit zahllosen weißen Tüpfeln, die später allmählich verschwinden, wenn der Haufen bereits ganz vertrocknet ist. In diesem Zustande verharrt die „meule“ auch nach sorg-

fältigem Begießen; erst Ende September erscheinen einige dürrtige Champignons. Verf. halten den Schimmelpilz für eine *Oospora*. Diese *O. fimicola* (Diagnose) läßt sich auf Fleischextrakt und Kartoffeln leicht isolieren und stellt gewiß nur einen Konkurrenten, aber keinen Parasiten des *Agaricus campester* dar.

Pantanelli (Modena).

Hecke, Ludwig, Ein innerer Krankheitskeim des Flugbrandes im Getreidekorn. (Zeitschr. f. d. Landwirtschaftl. Versuchswesen in Oesterreich. 1904. p. 59.)

Es ist eine bekannte Erscheinung, daß trotz der Saatgutbeize Brand auftreten kann, wobei die Erklärung eines solchen Auftretens nach den bisherigen Kenntnissen als noch nicht genügend zu betrachten ist. Einer Ursache der Erfolglosigkeit der Saatgutbeize glaubte Verf. seinerzeit näher kommen zu können, als er die Erscheinung der Absorption des Kupfers aus Lösungen durch die Brandsporen fand und durch diese Methode des Kupfernachweises in den Sporen der Ansicht war, eine verschiedene Empfindlichkeit der verschiedenen Brandarten gegen Kupfervitriol experimentell nach der Größe der Absorption feststellen zu können. Weitere Versuche widersprechen jedoch dieser Anschauung, nachdem gerade diejenigen Sporenarten, welche nach den bisherigen Beobachtungen am widerstandsfähigsten gegen Kupfervitriol sein sollen (besonders *Ustilago Tritici* und *Avenae*), am meisten Kupfer aus der Beizflüssigkeit absorbierten. Durch dieses Resultat lag der Gedanke nahe, daß doch vielleicht die verschiedenen Brandarten in ihrer Entwicklungsgeschichte voneinander abweichen. Während die Sporen des Steinbrandes erst während der Ernte oder durch Drusch in Freiheit gelangen und an dem gesunden Saatgut haften bleiben, um mit der Saat in den Acker zu gelangen und dort die wachsenden Pflanzen anzustecken, verstäubt der Flugbrand zu einer Zeit, wo das Getreide erst blüht, so daß bei der Ernte oder beim Drusch eine Bestäubung mit Sporen nicht stattfinden kann und daher die Frage entsteht, wie die Sporen an das Saatgut gelangen und was mit den verstäubten Brandsporen geschieht. Daß die Sporen früher oder später in den Boden gelangen und das Saatgut infizieren, ist wenig wahrscheinlich, da sie bis dahin jedenfalls längst gekeimt haben und zu Grunde gegangen sind. Die Annahme, daß sie lebend bleiben können oder gar sich vermehren sollten, ist durch keinen Versuch gestützt, resp. wird direkt durch die Versuche von Tubeuf und Nielsen bestritten. Auf Grund der hervorgehobenen Erwägungen und der Tatsache, daß besonders beim Flugbrand die Desinfektion schwer gelingt, hat Verf. folgende Versuche ausgeführt. Im Mai 1902 wurden bei Topfversuchen mit Wintergerste spontan einige Brandähren mit *Ustilago Hordei* erhalten. Auf die anfangs Juni blühenden gesunden Ähren wurden die eben verstäubenden Brandsporen übertragen und es trat nach einigen Tagen die Keimung auf. Die Pflanzen gaben gut ausgebildete Körner, die nach der Reife in Papiersäckchen sorgfältig aufbewahrt wurden, so daß jede weitere Bestäubung mit Brandsporen ausgeschlossen war. Die nicht gebeizten Körner wurden anfangs November in

Töpfen angebaut, wobei 16—30,7 Proz. Brandähren erhalten wurden, Diesen hohen Prozentsatz an Brandähren erklärt sich Verf. dadurch, daß die auf den Fruchtknoten der blühenden Pflanze gelangenden Sporen sofort zu Keimung gelangen und den sich entwickelnden Samen infiziert haben. Es war also der Pilz schon in dem Samen enthalten, bevor derselbe zur Reife gelangte. In welcher Weise diese Infektion erfolgt, hat Verf. noch nicht ermitteln können, er will ferner aus seinen Versuchen, die nur eine vorläufige Mitteilung darstellen, keinen Beweis für die Richtigkeit seiner Ansicht erbringen, sondern nur feststellen, daß es ihm gelungen ist, durch künstliche Bestäubung der Getreideblüte mit Flugbrandsporen Getreidefrüchte zu erzielen, welche im nächsten Jahre einen gewissen Prozentsatz an brandigen Pflanzen lieferten. Stift (Wien).

Delacroix, G., Rapport sur une maladie des asperges dans les environs de Pithiviers. (Bull. mensuel de l'Office de renseignements agricoles. 1903. 6 p.)

Der bei Pithiviers statt des Safrans in den letzten Jahren gepflanzte Spargel ist von demselben Pilze, der *Rhizoctonia violacea*, der die Safrankulturen zu Grunde gerichtet hatte, befallen worden. Verf. schildert nun den Verlauf der Infektion, die Krankheitserscheinungen und die ganze Entwicklungsgeschichte dieses geradezu unausrottbaren gefährlichen Parasiten. Trotzdem die Versuche zur Bekämpfung noch weiter energisch betrieben werden, kann doch schon jetzt als das vorläufig beste Mittel Schwefelkohlenstoff und Formalin empfohlen werden. Wird letzteres bis 35 cm Erdtiefe gespritzt (60 g pro 1 qm), so kann der Pilz selbst in den stark befallenen Kulturen und in den schwersten Böden zerstört werden. Matouschek (Reichenberg, Böhmen).

Delacroix, G., Sur une altération des tubercules de pomme de terre dans la région avoisinante Paris pendant le mois de septembre 1903. (Annales de l'institut nat. agronomique. Série II. T. III. Paris 1904. p. 1—40.)

Eine recht wichtige Arbeit, die sich mit verschiedenen Momenten befaßt. Verf. schildert die von *Phytophthora infestans* im Jahre 1903 bei Paris befallenen Kartoffelknollen und untersucht besonders die Haustorien des Pilzes. Roze hat die kleinen Flecken mit grauem Zentralpunkte auf *Pseudocommis Vitis* zurückgeführt, was Verf. aber sehr bestreitet. Das *Fusarium Solani* tritt sehr selten in die Kartoffelknollen ein, so daß dieser auf den Knollen und in der Umgebung derselben häufig lebende Pilz nur einen Saprophyten, aber keinen Parasiten vorstellt. Für den Praktiker sind die Bekämpfungsmittel und die statistischen Daten über den Grad der Empfänglichkeit der einzelnen Kartoffelsorten für diesen Pilz sehr lehrreich.

Matouschek (Reichenberg, Böhmen).

Delacroix, G., Sur un chancre du Pommier par le *Sphaeropsis Malorum* Peck. (Extrait du Bulletin de la Société Mycologique de France. T. XIX. Fasc. 2.)

Delacroix, G., Sur l'identité réelle d. *Sphaeropsis Malorum* Peck. (Extrait du Bulletin de la Société Mycologique de France. T. XIX. Fasc. 4.)

Hauptsächlich im Nordosten der Vereinigten Staaten werden Apfel- und Birnbäume, Quitten und Weißdorn häufig durch einen pathogenen Pilz geschädigt, den Peck als *Sphaeropsis Malorum* beschrieben hat. Neuerdings hat Delacroix diesen Pilz in Frankreich beobachtet. Die durch den Parasiten hervorgerufene Beschädigung, wobei die Rinde abstirbt und rissig wird, hat eine entfernte Aehnlichkeit mit dem Nectriakrebs. In Nordamerika geht der Pilz auch auf Früchte und Blätter über. Die zahlreich erscheinenden Fruchtkörper entstehen unmittelbar unter dem Periderm und durchbrechen dasselbe. Unter Umständen vertrocknet der über der Krebsstelle gelegene Teil des Zweiges. Am Grunde der Krebsstelle kann eine Wulstbildung der Rinde auftreten, wodurch einer weiteren Ausbreitung des Parasiten entgegengewirkt wird. Die Fruchtkörper des Pilzes sind ein- oder mehrkammerig, haben eine dicke, schwarze Wandung und erzeugen auf farblosen Sporenträgern elliptische oder ovale Konidien von $27-29:11-12,5\mu$. Diese sind und bleiben meist farblos und einzellig. Ein Teil der Sporen ist jedoch rauchbraun und manche außerdem etwas eingeschnürt und zweizellig. Delacroix neigt der Ansicht hin, daß eine von Stewart als Krebserreger angeführte kleinsporige *Cytospora* vielleicht nur als eine Form der *Sphaeropsis Malorum* zu betrachten sein dürfe. Das Mycel der *Sphaeropsis* ist im Rindenparenchym bräunlich, in den Holzelementen, die einen gelbbraunen wundgummiähnlichen Inhalt aufweisen, farblos. Die Sporen keimen in destilliertem Wasser leicht binnen 48 Stunden. In Kupfersulfatlösung von $1:50000$ trat Keimung nicht ein. Impfversuche an verwundeten Apfelzweigen waren von Erfolg. Blätter und Birnzweige zu infizieren mißlang. Delacroix hält den in Frage stehenden Pilz für einen Wundparasiten, der sich nur beim Vorhandensein von Beschädigungen der Rinde (Sonnenbrand, Frostrisse u. s. w.) anzusiedeln vermag. In den Vereinigten Staaten ist vorgeschlagen, die Rinde mit einer zusammengesetzten Seifenlösung zu bestreichen, um sie vor Beschädigungen zu schützen. Die vom Pilz befallenen Teile sind abzukratzen bezüglich abzuschneiden und zu verbrennen und die Wunden zunächst mit Kupfersulfatlösung, dann mit Steinkohlenteer oder einer Salbe zu bestreichen. Delacroix vermutet, daß auch durch Schildläuse, z. B. *Diaspis piri-cola* hervorgerufene Rindenverletzungen die Einwanderung des Pilzes ermöglichen und empfiehlt daher eine Bekämpfung dieser Insekten. — Bezüglich der Identität des Pilzes kommt Delacroix zu dem Schluß, daß der von ihm in Frankreich beobachtete Pilz nicht nur mit der amerikanischen *Sphaeropsis Malorum* Peck, sondern auch mit *Diplodia pseudo-Diplodia* Fuck., nicht aber mit *Diplodia maura* Cooke et Ellis und *Botryodiplodia Mali* P. Brunand, identisch ist und daß die *Macrophoma Malorum* (Berk.) Berl. et Vogl. (*Phoma Malorum* Sacc.) nur eine Jugendform des Pilzes ist, während *Macrophoma Malo-*

rum Stewart eine Melanconiee (*Gloeosporium* bezüglich *Hainesia*) sei. Verf. hält es für richtiger, den Pilz anstatt *Diplodia pseudo-Diplodia* oder *Sphaeropsis Malorum* fortan *Sphaeropsis pseudo-Diplodia* (Fuck.) G. Del. zu nennen. — *Diplodia pseudo-Diplodia* — vom Ref. auch in Deutschland an kranken Apfelbaumzweigen beobachtet — ist in Europa bisher nicht zu den Krankheitserregern der Obstbäume gerechnet worden.

Laubert (Berlin).

Aderhold, R., Ueber eine vermutlich zu *Monilia fructigena* Pers. gehörige *Sclerotinia*. [Vorläuf. Mitteilung.] (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. 1904. Heft 4. p. 262—266.)

Verf. legte im Herbst 1902 eine größere Zahl von Fruchtkeichen, die von *Monilia* erzeugt waren, im Freien aus und erzielte im laufenden Frühjahr auf zwei Kernobstfrüchten sporenbildende Sklerotinien, welche von denen, die Norton in den *Transact. of the Acad. of Sc. of St. Louis*. Vol. XII. No. 8 abbildet und unter *Sclerotinia fructigena* (Pers.) Schroet. beschreibt, durch die dreifache Größe der Asken abweichen. Es liegt nun die Vermutung nahe, daß der Nortonsche Pilz, nicht, wie er annimmt, zu *Monilia fructigena*, sondern zu *M. cinerea*, der Aderholdsche hingegen zu *M. fructigena* gehöre. Für letzteren kommt eine Zugehörigkeit zu *M. cinerea* nicht in Frage, da die Äpfel am meisten an *M. fructigena* leiden, während an Steinobsttummen meist *M. cinerea* vorkommt. Auch würden die von Norton gegebenen Askenmaße besser zu *Sclerotinia cinerea*, als zu *S. fructigena* passen, da ersterer Pilz in allen Teilen kleiner ist. Das seltene Vorkommen der Sklerotinien deutet auf das Bedürfnis einer größeren Zeitdauer zur Bildung dieser Pilzfrüchte hin.

Karl Pósch (Grinád, Ungarn).

Delacroix, G., A propos de *Stromatinia Linhartiana* Prill. et Del. (*Sclerotinia Cydoniae* Schellenberg.) (Extrait du Bulletin de la Société mycolog. de France. T. XIX. Fasc. 4.)

Die Blätter und Früchte der Quitte werden bekanntlich nicht selten von einer parasitären *Monilia*: *Stromatinia Linhartiana* Prill. et Del. befallen, die mit *Monilia Linhartiana* Sacc., welche auf Blättern und jungen Zweigen von *Prunus Padus* vorkommt, und *Ovularia necans* Passer. resp. *Ramularia necans* auf Mispelblättern, wenigstens morphologisch, identisch ist. Obwohl es sich hierbei vielleicht um Formen handelt, die biologisch verschieden sind, hält Verf. die Aufstellung einer besonderen Art: *Sclerotinia Cydoniae* Schellenberg für nicht gerechtfertigt. *Stromatinia Linhartiana* steht zwischen den einander fast identischen *Sclerotinia Padi* Woronin und *Sclerotinia Aucupariae* Ludwig. Bisher hatte Verf. die Entwicklung der *Peziza*-Form aus mumifizierten Quitten nicht beobachtet. Sehr junge im Jahre 1900 abgefallene Quitten, die mit etwas Erde bedeckt waren, lieferten im Frühling 1901 die *Peziza*-Form in ziemlich großer Menge; einige andere erst im Jahre 1902.

Zweite Abt. Bd. XIII.

30

Zwei an der Luft aufbewahrte sklerotisierte Quittenfrüchte lieferten im 3. Jahre je eine Peziza. Laubert (Berlin).

von Lagerhelm, G., Om af svamp angripna fikon och dadlar. (Separattryck us Svensk Farmaceutisk Tidskr. 1903. No. 18. 6 p. Stockholm 1903.)

Der Feigenbrandpilz, *Sterigmatocystis Ficum* (Reich.) Henn., zuerst von Reichardt 1867 aufgefunden und als *Ustilago Ficum* benannt, ist nach den früheren Untersuchungen von Hariot und P. Hennings kein echter Brandpilz, sondern zu *Sterigmatocystis* gehörig und nach des Verf. Ausführungen vom Dattelbrand, der früher als *Ustilago Phoenicis*, *Aspergillus Phoenicis*, zuletzt als *Sterigmatocystis Phoenicis* (Corda) Pat. et Delacr. beschrieben wurde, nicht verschieden. Die Sporen sind nicht glatt, sondern mit längslaufenden, körnigen Leisten versehen. In Smyrnafeigen kommt der Pilz gar nicht selten vor [auch Ref. erhielt kürzlich davon befallene Feigen, die in Hof in Bayern beschlagnahmt worden waren]. Er bildet im Inneren größere oder kleinere, schwarze, staubige oder schmierige Massen. Im Niltale werden die Datteln häufig vom Pilze angegriffen, die Krankheit wird dort Mchattel genannt; auch in den Datteln des europäischen Handels ist der Pilz mehrere Male beobachtet worden. Die Sporen sind meist noch entwicklungsfähig und bilden auf kohlehydratreichen Nährmitteln ein weißes Mycel, das bald reichlich Konidienträger und Sporen, später Sklerotien bildet. Die Konidienträger scheiden oxalsäurehaltige Tropfen aus. Stärke wird durch das Mycel verzuckert, Rohrzucker invertiert und Gelatine peptonisiert. Der Farbstoff der Sporenmembran ist dem der *Aspergilline* Linossiers nahe verwandt und läßt sich leicht durch alkalische Lösungen ausziehen. Ludwig (Greiz).

Linhart, G., Die *Peronospora-recte Pseudoperonospora*-Krankheit der Melonen und Gurken in Ungarn. (Zeitschr. für Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1905. Heft 3. p. 143—145.)

Im Jahre 1903 trat der Pilz in Ungarn sehr verheerend auf. Gurken und Kürbisse litten derartig an der Krankheit, daß der Schaden an manchen Orten 80 Proz. betrug. Bei den Gurken gingen die Blätter zu Grunde, während die Frucht sich abnormal entwickelte und im Wachstume zurückblieb; die Früchte der Melonen blieben auch infolge der Laubvertrocknung kleiner, unentwickelt, zuckerarm und hatten einen faden Geschmack. An den Früchten selbst trat der Pilz nicht auf. Später angebaute Parzellen wurden Anfangs August mit Bordeauxbrühe bespritzt und konnte diesbezüglich eine hemmende Wirkung konstatiert werden. Linhart fand den Pilz auch Anfangs September im k. k. Hofgarten zu Laxenburg bei Wien. Auf Kürbisblättern verursachte der Parasit keinen nennenswerten Schaden. Verf. empfiehlt auch die Bespritzung der Kulturen mit 1—1½-proz. Bordeauxbrühe; sobald sich der Pilz zeigt, muß gleich gespritzt und das Verfahren nach

14 Tagen wiederholt werden. Nach der Ernte muß das Kraut gesammelt und verbrannt werden, um die Ueberwinterungsorgane zu vernichten. Geeignete Wechselwirtschaft kann infektionshemmend wirken.
Karl Pósch (Grinád, Ungarn).

Hollrung, M., Bericht der Versuchsstation für Pflanzenkrankheiten in Halle a. S. über die während des Jahres 1903 in Mitteldeutschland beobachteten Krankheiten der Zuckerrüben. (Zeitschr. d. Vereins d. Deutschen Zuckerindustrie. 1904. p. 465.)

Da das Jahr 1903 durch eine verhältnismäßig trockene, kühle Witterung gekennzeichnet war, so sind Pilzkrankheiten nirgends in erheblichem Maße zum Durchbruch gekommen.

Peronospora Schachtii (Kräuselkrankheit) verursachte in zwei Fällen einen nicht unbedeutenden Schaden. Da Bespritzen mit Kupfervitriolbrühe derzeit wenig Erfolg verspricht, so hat Hollrung immer die Rübensamenfelder als denjenigen Ort bezeichnet, an welchem die Bekämpfung der Krankheit einzusetzen hat. *Rhizoctonia violacea* (Rotfäule) ist wiederholt aufgetreten und die Rotfäule kommt offenbar in allen denjenigen Fällen zur Ausbildung, wo neben der Anwesenheit des *Rhizoctonia*-Pilzes ein Mangel an Luft im Boden zu verzeichnen ist. Ein solcher Luftmangel kann teils durch zu dichtes Gefüge, teils durch zu hohen Wassergehalt des Bodens hervorgerufen werden, so daß die Abhilfsmittel in mechanischer Entwässerung und Auflockerung des Bodens durch Kalkdüngung, Mist u. s. w. zu bestehen haben.

Feldmäuse und Scheermäuse haben durch vollkommenes Ausfressen der Wurzeln sehr geschadet; das dazu gehörige Kraut liegt rosettenartig am Boden und kann ohne weiteres abgehoben werden. Die grauen Erdmaden (*Agrotis spec.*) haben sich fast gar nicht gezeigt, während Drahtwürmer in einem Falle einen Verlust von 10 Proz. pro Morgen verursacht haben sollen. Ungemein heftig und ganz allgemein war das Auftreten der Runkelfliege (*Anthomyia conformis*), durch deren Made das Mesophyll der Blätter herausgefressen wird, wobei Blattober- und -Unterseite bestehen bleiben. Da die Fliege ihre Eier gerne in die beim Verziehen zurückgebliebenen jungen Rübenpflänzchen ablegt, so sind diese bald nach beendeter Verziehzeit tief einzuhacken. Ebenso häufig sind auch die Blattläuse (*Aphis spec.*) aufgetreten, und zwar nicht nur auf Fabriksrüben, sondern hauptsächlich auf Samenrüben. Die Blattläuse verursachen durch ihr Auftreten eine eigentümliche Blattkräuselung, wodurch ihnen ein ganz erheblicher Schutz gegen allerhand Einwirkungen von außen her gewährt wird, infolgedessen auch chemische Mittel zur Bekämpfung versagen müssen. Der Schaden betrug bei Fabriksrüben 3—25 Proz., bei Samenrüben noch mehr, ja es sind sogar Samenfelder vollständig zu Grunde gegangen. Die Blattlaus ist nach Hollrungs Beobachtungen eine ständige Begleiterin der im ausgetrockneten Boden befindlichen Rüben. Eigentümlich ist auch das häufige nesterweise Auftreten der Blattläuse. Die Rüben nematoden (*Hetero-*

dera Schachtii) haben wenig geschadet, da die kühle Frühjahrswitterung deren Entwicklung offenbar nicht günstig war.

Schoßrüben sind zumeist nur im Herbst aufgetreten. In einem Falle lag die Ursache zweifellos in der Zuführung zu großer Mengen von organischem Stickstoff durch die Gründüngung. Wurzelbrand ist teils wenig, teils wieder ziemlich heftig aufgetreten; eine zweckmäßige Bodendurchlüftung leistet in erster Linie dem Verschwinden der Krankheit Gewähr. Das Auftreten des Wurzelkropfes war vereinzelt und ohne Interesse. Albicatio ist in einigen Wirtschaften aufgetreten, doch sind erhebliche Schäden durch diese rätselhafte Krankheit nicht entstanden, so daß ihr mehr ein theoretisches als praktisches Interesse zukommt. (Stift (Wien).

Bubák, Fr., Neue Krankheit der Zuckerrübe in Böhmen. (Zeitschr. f. Zuckerindustrie in Böhmen. Jahrg. XXVIII. 1904. p. 342.)

Verf. fand auf Zuckerrübenblättern neben den bekannten Flecken, welche durch den Pilz *Cercospora beticola* Sacc. hervorgerufen wurden, auch unregelmäßig runde, oft ausgebauchte Flecke mit einem Durchmesser von 4–10 mm, deren Farbe grau oder graubraun war und bei welchen die charakteristische rote Umwallung der *Cercospora*-Flecke fehlte. Die Flecke besaßen vielmehr an der Peripherie einen schmälere oder breiteren, grauen, konzentrisch eingeschrumpften Streifen. Mitunter war dieser Streifen ziemlich breit und verschwand nach und nach im Gewebe. Beim Eintrocknen des Fleckengewebes entstanden in demselben verschiedenartige Risse, was diese Flecke gegenüber den *Cercospora*-Flecken charakterisiert. Die Ursache dieser Erscheinung lag in dem Auftreten eines von *Cercospora* ganz verschiedenen Pilzes, nämlich *Ramularia Betae*, welcher in die Gruppe der *Fungi imperfecti* und zwar unter die *Hyphomycetes* gehört und bis jetzt nur in Dänemark beobachtet worden ist. Bei der *Ramularia* bilden sich die Sporen vorwiegend an der Blattunterseite. Die Sporenträger sind nur mit einer stärkeren Lupe sichtbar. Man sieht bei *Cercospora* entweder nur dunkle Bündel, oder wenn sich an denselben zahlreiche Sporen entwickelt haben, sind dieselben dunkel, mit einem weißen Anflug, bei *Ramularia* immer schneeweiß. Diese Bündel sind bei *Cercospora* olivenfarbig, bei *Ramularia* farblos, nur wenig verbogen, unten flaschenförmig ausgebaucht, oben verjüngt und schwach gezähnt; sie sind 20–25 μ lang, 4–6,6 μ breit. Die Sporen (Konidien) beider Pilze sind farblos. Bei *Cercospora* sind sie fadenförmig, oft schwanzförmig ausgezogen und vielzellig, bei *Ramularien* walzenförmig, an einem oder an beiden Enden stumpfspitzig, ein- bis zweizellig, 10–26 μ lang, 3–5,5 μ breit. Oft bilden sie an den Trägern eine aus 3–4 Sporen bestehende Reihe. Durch die angeführten Kennzeichen lassen sich demnach beide Krankheiten makro- und mikroskopisch leicht unterscheiden. In der betreffenden Gegend wurde *Ramularia* von der Futterrübe auf die Zuckerrübe übertragen. Die Flecke der *Ramularia* sind auffallend ähnlich jenen, welche *Phyllosticta Betae* hervorruft.

Nachdem nun auf einer ganzen Reihe wildwachsender Pflanzen und auf einigen Kulturpflanzen *Ramularia* und *Phyllosticta* gemeinsam, oft auf denselben Flecken vorkommen oder aufeinanderfolgen, scheint es, daß beide Pilze genetisch zusammenhängen. Bubák ist daher der Ansicht, daß diese beiden Pilze nur die Entwicklungsstadien eines höheren Pilzes, und zwar am wahrscheinlichsten eines Kernpilzes (*Pyrenomyces*) sind, wie er ferner dafür hält, daß *Ramularia* mehr, als bisher bekannt, verbreitet ist und besonders in Deutschland einheimisch sein wird.

Stift (Wien).

Bubák, Fr., Versuche zur Vernichtung von Wurzelbrand der Zuckerrübe (*Rhizoctonia violacea* Tul.) im Erdboden. (Zeitschr. f. Zuckerindustrie in Böhmen. Jahrg. XXVIII. 1904. p. 344.)

Die Versuche wurden auf einem Felde ausgeführt, welches mit diesem Pilz stark verseucht war, wobei zur Bekämpfung Eisenvitriol und Kupfervitriol herangezogen wurden. Auf einer Fläche von 21 qm wurde am 23. März die eine Hälfte mit 4 kg Eisenvitriol bestreut, welches mit Wasser besprengt und sodann seicht vergraben wurde. Am 30. März wurde dasselbe mit ungelöschtem Kalk neutralisiert. Die andere Hälfte des Feldes blieb im ursprünglichen Zustande. Die am 6. April gesäte Rübe ging normal auf und entwickelte sich in derselben Weise. Bei der Ernte am 9. Oktober wurde konstatiert: 1) daß das Eisenvitriol sehr günstig auf das Wachstum der Zuckerrübe und zum Teil auch auf deren Zuckergehalt eingewirkt hat und 2) daß auch der Prozentsatz der infizierten Rübe auf 28,75 Proz. gegen 47,5 Proz. bei der nicht behandelten Fläche gesunken ist. Die Versuche mit Kupfervitriol wurden in derselben Weise durchgeführt und die Ernte erfolgte am 17. Oktober. Hier hat sich aber gezeigt, daß bei der Anwendung des Kupfervitriols der Prozentsatz der erkrankten Rüben beträchtlich, und zwar von 68,18 auf 97,78 Proz., gestiegen ist. Diese Erscheinung dürfte mit dem schädlichen Einfluß des Kupfervitriols auf die Rübe und der daraus resultierenden größeren Disposition der Rübe zur Erkrankung zu erklären sein. In Bezug auf den Kalk hat sich gezeigt, daß derselbe absolut keine abtötende Wirkung auf den Pilz ausgeübt hat. Nach obigen Ergebnissen scheint im Eisenvitriol ein Mittel gefunden zu sein, welches mit Vorteil zur Vertilgung der *Rhizoctonia* Anwendung finden kann. Sache weiterer Versuche ist, festzustellen, ob es nicht angezeigt wäre, das Eisenvitriol schon im Herbst anzuwenden, und welches Quantum dieser Substanz zur Abtötung des Pilzes genügt, ohne der Rübe zu schaden und Schwierigkeiten bei der Verarbeitung zu verursachen. (Bei den vorliegenden Versuchen handelt es sich um die Bekämpfung einer Krankheit, welche unter dem Namen „Rotfäule“ schon ein halbes Jahrhundert bekannt ist. Wenn es nun Bubák beliebt, für diese Krankheit ganz willkürlich die Bezeichnung „Wurzelbrand“ einzuführen, worunter man schon seit 70 Jahren eine ganz andere Krankheitserscheinung kennt und versteht, so ist dies ein Vorgang, der nur dazu angetan ist, Ver-

wirungen hervorzurufen, und daher entschieden verurteilt werden muß. Der Ref.)
Stift (Wien).

Brizi, V., Sulla *Botrytis citricola* n. sp. parassito degli agrumi. (Rendiconti Accademia Lincei [5]. Vol. XII. 1903. p. 318—324.)

Auf Citronen und Apfelsinen hat sich eine neue (? Ref.) Krankheit verbreitet, welche von *Botrytis citricola* n. sp. (Diagnose) verursacht wird. Werden die erwähnten Früchte in einem trockenen Raume aufbewahrt, so dringt das Mycel in das ganze Mesokarp ein und läßt dasselbe austrocknen, während die Schale lederhart und braungelb wird. Werden solche „mumifizierte“, stark aromatisch riechende Früchte im Thermostaten bei 30° auf einer mit Citronensaft oder 0,5-proz. Citronensäure angesäuerten Rohrzuckerlösung schwimmen lassen, so erscheinen bald Konidien unter schwacher Alkoholgärung. Auf Gelatine + Apfelsinensaft entwickeln die Konidien längliche Sporidien, welche entweder das Mycel oder konidientragende Hyphen direkt reproduzieren. Andere Formen wurden nicht erhalten. Die Infektion scheint bereits auf der Blüte stattzufinden. Eine künstliche Impfung gelang am besten durch Uebertragung der Konidien auf unreife Früchte, während die Versuche, gesunde Früchte mit der Kulturflüssigkeit des isolierten Pilzes oder dem durch Chamberland filtrierten Fruchtsaft zu infizieren, erfolglos blieben.
Pantanelli (Modena).

Brizi, V., Sulla malattia degli olivi denominata „brusca“. (Abdruck aus Bullettino Ufficiale d. Ministero d. Agricoltura.) 4°. 37 p. 4 Tafeln. Rom 1903.

Die von dieser gefürchteten, in Süd-Puglia verheerenden Krankheit befallenen Oelbaumblätter nehmen in einzelnen Gebieten eine grau-rötliche Farbe (daher der Name: Brusca = Brand) an, und zwar meist von der Spitze aus bis zur Hälfte ihrer Oberfläche, wobei die Gefäßbündel öfters ein Hindernis gegen die weitere Verbreitung entgegensetzen. Nur ausgewachsene Blätter werden heimgesucht und nicht immer fallen sie vom Zweig ab. Auf den Flecken sieht man kleine Tüpfel, welche die Fruchttorgane von *Stictis Panizzei* de Not. darstellen. Wegen des baldigen Absterbens einer großen Menge Laubblätter werden im Frühling neue ausgebildet, aber keine oder nur wenige Blüten erscheinen, woraus nur selten einige unreif abfallende Früchte entstehen können. Die befallenen Aeste bleiben in ihrem Wachstum bedeutend zurück und entwickeln nur im vierten Jahr einen Holzring. Einzelne Oelbaumrassen (Nardô, Collina) widerstehen besser wie andere (Ogliarola). Ein feuchter, trüber Frühling begünstigt die Verbreitung der Krankheit.

In den Zellen befallener Blätter läßt sich durch Fixieren mit abs. Alkohol, Beizen mit Milchsäure und Färben mit Poirierblau das Mycel der *Stictis* überall nachweisen. Die Apothecien erscheinen erst beim Aufbewahren in einem feuchten Raume. Die Askosporen lassen sich in mit Na₂CO₃ (? Ref.) versetzter Traubenzuckerlösung leicht zur Keimung bringen, sie sterben aber auf der Oberfläche gesunder Laubblätter ohne zu keimen ab, ebenso wie

durch Einwirkung von einem Teil CuSO_4 oder Kupferacetat in 20000 Teilen Wasser. Ein Teil Kochsalz in 100 Teilen Wasser hemmt schon das Wachstum der Keimschläuche. Konidien wurden nicht erhalten, Verf. meint, weil die Wirtspflanze eine immergrüne ist.

Die Krankheit wurde erst durch Zusammenlegen von kranken und gesunden Blättern in dunstgesättigtem Raume reproduziert. Verf. selbst scheint aber nicht ganz überzeugt zu sein, daß *Stictis Panizzei* die Ursache der höchst schädlichen Krankheit sei. Bordeauxbrühe war wirkungslos; eine geringe Hemmung wurde durch 2-proz. Kaliumsulfat erzielt. Weitere Untersuchungen sind offenbar notwendig.

Pantaneli (Modena).

Brizi, V., Una malattia dell' endivia. (Agricultura moderna. Vol. X. 1904. p. 32—33.)

Die Blätter von *Cichorium Endivia* bedecken sich mit braunen Pusteln, dann verwesen die äußeren Teile, während die inneren Blätter sich in eine faulige, braune Masse verwandeln. Die Ursache ist *Puccinia Prenanthidis*. Bordeauxbrühe oder einfach Abbrennen der heimgesuchten Gärten werden zur Vertilgung vorgeschlagen.

Pantaneli (Modena).

Istvánffy, Gy., Két új szőlőkárosító hazánkban. [Zwei neue Rebenschädlinge in Ungarn.] (A. m. k. központi szőlészeti kísérleti állomás és ampelologiai intézet közleményei. III. k. 1. f. 1903. p. 1—54.)

Verf. behandelte schon in den Ausgaben der ung. Akademie der Wissenschaften (A. M. T. Akadémia. III. osztályának folyóirata. XXII. k. 2 f. p. 157—176) die beiden Rebenschädlinge *Ithyphallus impudicus* und *Coepophagus echinopus* und ist diesbezüglich meinerseits auch ein Referat (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XI. 1904. No. 19) erschienen. In gegenwärtiger Arbeit werden die angeführten Untersuchungen ausführlich erläutert und gelangt Autor betreffs der morphologischen und biologischen Verhältnisse der Schädlinge, der durch dieselben hervorgerufenen pathologischen Veränderungen am Weinstocke, als auch betreffs der Bekämpfung, die in ersterer Arbeit gar nicht berücksichtigt wurde, zu folgenden Schlüssen:

1) Der Pilz *Ithyphallus impudicus* Fries. (Gift- oder Gichtmorchel) greift auch den lebenden Weinstock und dessen Wurzel an und wird dadurch zum wirklichen Parasiten. 2) Die Vegetationsorgane des Pilzes bestehen aus den im Boden sich verbreitenden oder an den Wurzeln resp. Stocke haftenden, blaßrötlichen, zwirn- bis strangartigen Mycelfäden, welche daselbst ein mehrere Millimeter dickes, gedrungenes Gewebe bilden. 3) Auf dem faserigen Mycelium bilden sich die rötlichen oder blaurötlichen, 3—4 cm breiten, knollenförmigen, eiartigen Fruchtkörper, aus welchen sich besonders nach Regen der morchelartige, doch eine stinkende Schleimmasse (Sporenmasse) absondernde Pilzkörper entwickelt. 4) Das Mycelium geht oft auch auf die Pfähle über. 5) Die Anwesenheit des Pilzes verraten außer dem widrigen Geruche der

ausgebildeten Pilzform die beim Behauen des Weingartens hervortretenden jungen Fruchtkörper, die zu vernichten sind. 6) Zur Feststellung der Anwesenheit des Pilzes sollen die Pfähle aus der Erde gezogen und deren Enden untersucht werden; finden sich dort blaßrote, zwirnartige Pilzfäden vor, ist dies schon ein Zeichen einer Ansiedelung von *Ithyphallus*. 7) Derartige Pfähle sind an ihren Enden abzubrennen und sind bei der Behauung die nebenstehenden Stöcke gründlich zu untersuchen, ob sich nicht auch dort schon das Mycelium angesiedelt hat. 8) Die Blätter der erkrankten Stöcke bräunen sich an ihren Rändern, der Stock selbst verkümmert und bleibt klein und buschig, der Traubenansatz nimmt ab und schließlich geht die ganze Pflanze zu Grunde. 9) Der *Ithyphallus*-Pilz wurde meistens auf Sandböden, und zwar auf den europäischen Sorten Kolmreifer (Zierfandl) und Hönigler gefunden. 10) Der Pilz erscheint auf Sandböden jährlich zweimal, und zwar Ende Mai und von August an bis Ende Herbst. 11) Die Bekämpfung besteht sowohl in sorgfältiger Behauung, Lüftung und Reinigung als auch Bestreichung der erkrankten Stöcke. Letzteres Verfahren wird durch Anwendung einer 8—10-proz. Calciumbisulfitlösung durchgeführt; die derartig behandelten Pflanzen müssen ferner mit einer 1—2-proz. Lösung des angeführten Mittels begossen und durch Bedeckung ihrer unterirdischen Teile mit reiner Erde in ihre ursprüngliche Lage zurückgebracht werden. 12) Das Mycelium wächst entweder an der Wurzel fort, oder es wird letztere von demselben eingefaßt oder ganz umhüllt. 13) Die Vegetationsorgane des Pilzes gehen von der Wurzel aus auf den Stock über, wo dann am Kopfe desselben auch Fruchtkörper entstehen können. 14) Der Pilz kommt parasitisch auch auf den unterirdischen Teilen von *Gleditschia*, *Robinia* und Unkräutern vor. 15) In den Wurzeln kommen die Vegetationsorgane als feinfaseriges Mycelium und strangartige Büschel vor; ersteres ist der wurzelvernichtende Teil, letztere versorgen die Beförderung der Nährsäfte. 16) Die in den Wurzeln sich entwickelnden Mycelstränge bestehen aus 4 Teilen, nämlich aus dem Marke, einer faserigen Hülle, der Kristallschicht und einer äußeren filzigen Schicht, welche bei den letzteren die Aufsaugung verrichten. 17) Die Vernichtung der Wurzelgewebe beginnt im Weichbast und erstreckt sich sodann auf den Rindenbast und den Holzkörper. 18) Das den Holzkörper umringende Mycelium dringt durch die Markstrahlen ein, vernichtet die Holzteile und es bleiben nur Gefäßüberreste zurück. 19) In dickeren Wurzeln ist eine Verteidigung der Markstrahlen durch Produktion von Ersatzgewebe zu konstatieren. 20) Nach Vernichtung der Gewebe geht auch das Mycelium zu Grunde und wird dessen Vorkommen durch den angesammelten feinkörnigen Kristallstaub, der früher in Kristallform die Fäden bedeckte, angedeutet. 21) In den befallenen, noch grüne Triebe bildenden Stock dringt das aus den Haustorien sich entwickelnde Mycelium durch die Baststrahlen ein, erfüllt die Ränder des Holzes und zieht sich sodann durch die Markstrahlen in das Innere der Holzgewebe. 22) Die Pfähle werden auch vom Mycelium angegriffen, Frucht-

körper bilden sich jedoch hier nicht. 23) In dem Mycelium von *Ithyphallus impudicus* bilden sich auf feineren Fäden Kristallgruppen, auf den dickeren Fäden hingegen nadelartige Kristalle ($6\ \mu \times 1\ \mu$); es sind auch Kristallkugeln zu finden, die denen des *Ithyphallus caninus* ähnlich sind, jedoch dickere (nicht feine, nadelartige) Kristalle enthalten. 24) Die Anfangsstadien der Fruchtkörper bilden sich reichlich am fruchtbaren Mycelium; zwischen diesen entstehen jedoch auch kleine Myceliumknollen, die bis jetzt unbekannt waren. Diese Knollen bestehen aus gleichförmig-breiten, an ihren Enden verzweigten Hyphen und sind dieselben mit einer dünnen, braunen Rinde bedeckt; ihre Rolle konnte nicht ermittelt werden. 25) Das Receptaculum kommt aus den jungen Fruchtkörpern gewöhnlich bei Nacht hervor. 26) Von der Sprengung der Volva bis zur vollkommenen Entwicklung des Strunkes verging ein Zeitraum von mindestens einer Stunde bis höchstens 4 Tagen. 27) Die jungen Fruchtkörper erreichen eine verschiedene Größe, entwickeln jedoch ein mit völlig reifer Gleba bedecktes Receptaculum. 28) Im Freien hebt und sprengt der junge Fruchtkörper die Bodenschicht; es können jedoch bis zur völligen Entwicklung auch Wochen vergehen. 29) Die in tieferen Bodenschichten entstandenen jungen Fruchtkörper treten nicht hervor, sie gehen am Entstehungsort zu Grunde. 30) Das Gewicht der jungen Fruchtkörper beträgt 26—115 g, der Gewichtsverlust beträgt nach beendeter Entwicklung 7—24 g. 31) Der kürzeste Strunk war 11 cm lang und sein Gewicht betrug 3—5 g, während das Gewicht eines 19 cm langen Strunkes 13—20 g betrug; ein beständiges Verhältnis kann daher nicht angegeben werden. 32) Das Gewicht der Gleba schwankt zwischen 2 und 13 g; die Konsistenz ist verschieden. 33) Die *Coepophagus echinopus*-Milbe kommt als Rebenparasit auch in Ungarn vor und nagt in der Wurzelrinde Gänge. 34) Bei uns wurden homomorphe Männchen und Weibchen gefunden. Die in der Rinde lebende Milbe dringt später auch in die holzigen Teile der Wurzeln ein, wo sie den Holzkörper vernichtet, jedoch die sich vorfindenden Mycelfäden des *Ithyphallus*-Pilzes verschont. 36) In den von *Ithyphallus* vernichteten Wurzeln hausen auch Glyciphageen und Drahtwürmer.

Autor summiert seine Untersuchungsergebnisse in den angeführten 36 Punkten und wird die an neuen Tatsachen reiche Studie durch 3 kolorierte Tafeln erläutert, die uns den Parasitismus der beiden Schädlinge ganz deutlich klarlegen.

Karl Pósch (Grinád, Ungarn.)

Viala, P. et Pacottet, P., Sur les verrues des feuilles de la vigne. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXXXVIII. Paris 1904. p. 161.)

Die von den Verff. beschriebenen „verruen“ des Rebstockes sind identisch mit den längst bekannten, in Deutschland besonders von Sorauer studierten „Intumescenzen“. Anatomisch sind sie nach den Verff. charakterisiert durch „Bildung eines dünnen Palissadengewebes auf Kosten der 3., 4. und 5. Schicht des Schwammparenchyms“. Sie treten nicht im Freien auf, sondern nur in den

Treibhäusern unter dem Einfluß feuchter Luft. Auch Licht ist für ihre Bildung nach den Verff. unerlässlich. Auf erwachsenen Blättern sollen sie sich nicht mehr bilden können.

Die Verff. halten sie für ein Schutzmittel gegen zu starke durch das Licht geförderte Transpiration. Küster (Halle a. S.).

Bandisch, F., Notizen über *Septoria parasitica* R. H., *Fusoma Pini* R. H. und *Allescheria Laricis* R. H. (Centralbl. f. d. ges. Forstwesen. Jahrg. XXIX. 1903. p. 461.)

Verf. hatte Gelegenheit, ein epidemisches Auftreten der eben genannten Pilze zu studieren. Es zeigte sich: 1) daß *Septoria parasitica* sich besonders in nassen Sommern entwickle und verbreite und besonders die Seitentriebe vernichte, 2) daß *Fusoma Pini* in dem beobachteten Falle 25 Proz. der Fichtenkeimlinge getötet hat und daß es sich stark durch den Boden verbreitet, 3) daß *Allescheria* den Keimlingen und den bis über 2-jährigen Pflanzen der Lärche sowohl in der Kultur als auch im Freiland sehr großen Schaden zufügt. Matouschek (Reichenberg).

Malkoff, C., Die Cicade *Tettigonia viridis* L. als Schädiger der Obstbäume in Bulgarien. (Zeitschr. f. Pflanzenkr. Bd. XIV. 1904. p. 40–43. 1 Abb.)

Die in ganz Europa an der niederen Vegetation gemeine Kleinzirpe *Tettigoniella viridis* (L.) hat in dem bulgarischen Obstbaubezirke Küstendil die Aepfel-, Birnen- und Zwetschenbäume durch ihre Eiablage im Spätherbst wiederholt geschädigt. Diese erfolgt durch Einschieben der Eier (mittels des Lagestachels) unter die zarte Triebrinde, die infolge des Reizes Sprünge von 3–4 mm Länge erhält; hinter diesen Eingängen liegen die Eier zu 7–10 in einer Reihe, wobei stehengebliebene Gewebstücke der Rinde eine Art von Kammerung bilden. Die belegten Triebe wachsen nicht weiter oder bleiben doch jahrelang zurück, auch geben sie seltener oder gar nicht Früchte. Im Frühjahr gepfropfte Edelreiser wurden viel stärker geschädigt, da die ganze Bastpartie ergriffen war. In jenem Teile Bulgariens kamen innerhalb von 5–6 Jahren zweimal größere Beschädigungen der gedachten Art vor. Außer an Obstbäumen bringt *T. viridis* die Eier dort auch an Weiden, Pappeln etc. unter, was Ref. nach gelegentlichen Beobachtungen für das gewöhnliche Verfahren in Mitteleuropa hält.

Jacobi (Tharandt).

Störmer, K., *Peritelus griseus* Oliv., ein neuer Schädling am Hopfen aus der Familie der Rüsselkäfer. (Prakt. Bl. f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. Jahrg. II. 1904. p. 7–9.)

Im April und noch stärker im Mai 1903 trat *Peritelus griseus* (Ol.) in einer bis dahin gut gedeihenden Hopfenanlage bei Geisenfeld i. Oberbayern auf, wo er jeden Stock zu Hunderten befiel und den jungen Trieb radikal bis auf den Boden hinunter abfraß. Die örtlich sehr beschränkte Verbreitung erklärt sich aus der Flügellosigkeit dieses Rüsslers, der von einem nahe benachbarten Walde her eingewandert sein mochte. Durch Abklopfen und Ein-

sammeln bekämpft, fraß der Käfer doch etwa 60 Proz. der Stöcke vollständig ab, so daß sie entweder eingingen oder im Juli erst wieder einen kurzen Stockausschlag zeigten. Gegen Mitte Juni verschwand der Schädling, wahrscheinlich zur Eiablage, im Boden, da man einzelne noch weiter in 10 cm Tiefe fand. Zur Bekämpfung bezw. Vorbeugung wird das Absammeln, nötigenfalls Bespritzen der Pflanzen mit Gift, und Ziehen von Gräben angeraten.

Jacobi (Tharandt).

Eckstein, K., Der Riesenbastkäfer *Hylesinus* (*Dendroctonus*) *micans* Kug. (Zeitschr. f. Forst- u. Jagdw. Jahrg. XXXVI. 1904. p. 243—249.)

Die Entwicklungsweise des *Dendroctonus micans* (Kug.) ist dadurch merkwürdig, daß man an seinen Fraßstellen in der Fichte stets Larven und Käfer gleichzeitig, vom Juni bis August sogar alle 4 Stufen zusammen findet. Die verschiedenen hierzu gegebenen Erklärungen prüft E. nochmals und kommt durch Vergleich aller wesentlichen Beobachtungen zu dem Schlusse, daß die ungleichzeitige Entwicklung davon abhängt, daß die im Sommer ausschlüpfenden Käfer sich entweder zur Fortpflanzung aus der Rinde hervorarbeiten oder unter ihr überwintern. Die Sachlage ist also die, daß unter den Geschwistern einer Brut eine Spaltung eintreten kann, indem die einen bald nach überstandener Verwandlung hervorkommen und sich fortpflanzen, die anderen das erst nach Jahresfrist tun. Festzustellen bleibt noch, welches der beiden Verhalten die Regel ist und in welchem Zahlenverhältnisse beide zueinander stehen. — Es folgen noch einige Angaben über neuerdings vorgenommene Bekämpfungsmaßregeln in Belgien und im Aachener Regierungsbezirke, sowie eine Zusammenstellung der neueren Literatur über *D. micans*.

Jacobi (Tharandt).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Justs botanischer Jahresbericht, hrsg. v. F. Fedde. Jg. XXXI. (1903). Abt. II. Heft 1. **Seckt**, Schizomyceten. Leipzig (Bornträger) 1904. p. 1—72.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Automatisch wirkender Gär- und Sterilisierspund. (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. XXXII. 1904. Heft 38. p. 894—896. 4 Fig.)

Carini, A., Impftisch für Rinder. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 1. p. 156—159. 2 Fig.)

Czaplewski, Ueber Versuche mit einer hygienischen Geschirrspülmaschine. (Dtsche Vierteljahrschr. f. öff. Gesundheitspf. Bd. XXXVI. 1904. Heft 4. p. 579—595. 4 Fig.)

- Fremlin, H. S.**, The plate cultivation of anaerobic bacteria. (Lancet. 1904. Vol. II. N. 12. p. 824.)
- Galli-Valerio, Bruno**, Influence de l'agitation sur le développement des cultures. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 1. p. 151—153.)
- Kraus, Alfred**, Zur Färbung der Hyphomyceten im Horngewebe. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 1. p. 153—156.)
- Klopstock, M. u. Kowarsky, A.**, Praktikum der klinischen, chemisch-mikroskopischen und bakteriologischen Untersuchungsmethoden. Wien (Urban u. Schwarzenberg) 1904. VIII, 296 p. 8°. 16 Taf. 5 M.
- Lewaschew**, Ueber Vorrichtungen zur raschen Entwicklung von Formalindämpfen zu Desinfektionszwecken. (Hyg. Rundsch. Jg. XIV. 1904. N. 19. p. 921—923. 2 Fig.)
- Oker-Blom, Max**, Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit mit Bezug auf bakteriologische Zwecke. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 1. p. 150—151. 1 Fig.)
- Regaud, Cl.**, Lampe électrique pour la microscopie. (Compt. rend. de l'Assoc. des Anat. Toulouse 1904. Bibliogr. anat. Supplém. p. 203.)
- Silberberg, Max**, Apparat für Gasentwicklung durch Bakterien. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterr. Jg. VII. 1904. Heft 8. p. 639—640. 1 Fig.)
- Stich, Konrad**, Eine neue Methode zur Bestimmung des Luftstaubes und ihre Verwendung zur Prüfung eines neuen Wassersprengapparates. (Dtische Vierteljahrsschr. f. öff. Gesundheitspfl. Bd. XXXVI. 1904. Heft 4. p. 655—666. 1 Fig.)

Systematik, Morphologie.

- Austen, Ernest E.**, Supplementary notes on the Taetse-Flies (Genus Glossina Wiedemann). (British med. Journ. 1904. N. 2281. p. 658—662. 1 Fig.)
- Besredka**, Existe-t-il un ou plusieurs streptococques? [Suite.] (Bull. de l'inst. Pasteur. Année II. 1904. N. 17. p. 689—695.)
- Byloff, Karl**, Ein Beitrag zur Kenntnis der Rattentrypanosomen. Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss. Wien 1904. 28 p. 8°. 1,10 M.
- Castellani, A. and Willey, A.**, Observations on the Haematozoa of Vertebrates in Ceylon. (Spolia Zeylanica. Vol. II. 1904. P. 6. p. 78—92. 1 Taf.)
- Cato, John**, A new Trematode. (British med. Journ. 1904. N. 2281. p. 663.)
- Conyngham, H. F.**, A new trematode of man (Amphistoma Watsoni). (British med. Journ. 1904. N. 2281. p. 663. 4 Fig.)
- Cruchet, P.**, Essais de culture des Urédinées sur Labiées. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 1/3. p. 95—96.)
- Duggeli, Max**, Die Bakterienflora gesunder Samen und daraus gezogener Keimpflänzchen. [Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 1/3. p. 56—63.)
- Enderlein, Günther**, Lepidophthirus nov. gen., eine Laus der Elefantenrobbe von der Kerguelen-Insel. (Zool. Anz. Bd. XXVIII. 1904. N. 2. p. 43—47. 5 Fig.)
- Fuhrmann, O.**, Neue Trematoden. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 1. p. 58—64. 4 Fig.)
- Häyrén, Ernst**, Verzeichnis der aus Finland bekannten Mucorineen. (Meddelanden af soc. pro fauna et flora fennica. 1902—1903. Heft 29. Helsingfors 1904. p. 162—164.)
- Jordi, E.**, Weitere Untersuchungen über Uromyces Pisi (Pers.). (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 1/3. p. 64—72.)
- Kuntze, W.**, Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 1/3. p. 1—12. 1 Taf. u. 1 Fig.)
- Küster, Ernst**, Ciliaten in Valoniazellen. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. IV. 1904. Heft 3. p. 384—390.)
- Lacomme, L.**, Les milieux caféinés en bactériologie; différenciation du bacille d'Eberth et du colibacille. Thèse de Lyon. 1904. 8°.
- Lopeschkin, W. W.**, Zur Kenntnis der Erbllichkeit bei den einzelligen Organismen. — Die Verzweigung und Mycelbildung bei einer Bakterie (Bacillus Berestniewi n. sp.). [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 1/3. p. 13—22. 20 Fig.)
- Lichtenheld, Georg**, Ueber die Fertilität und Sterilität der Echinokokken bei Rind, Schwein, Schaf und Pferd. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 1. p. 64—73. 2 Taf.)
- Looss, A.**, Zur Kenntnis des Baues der Filaria loa Guyot. (Zool. Jahrb. Abt. f. Systemat. d. Tiere. Bd. XX. 1904. Heft 6. p. 549—574. 1 Taf.)

- Kelly, C. W.**, Notes on the so-called paralysis tick, *Ixodes pilosus*. (Agric. Journ. of the Cape of Good Hope. Vol. XXV. 1904. N. 3. p. 291—296.)
- Metcalf, Haven**, *Bacterium teutlium* sp. nov. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 1/3. p. 28—30.)
- Miculicich, Miroslav**, Ein neuer Lernaepodide. (Zool. Anz. Bd. XXVIII. 1904. N. 2. p. 47—52. 3 Fig.)
- Nobbe, F. und Simon, J.**, Zum Wirtwechsel der *Cuscuta*-Arten. (Sächs. landw. Ztschr. 1904. N. 36. p. 793—796.)
- Palmans, L.**, Étude d'un bacille trouvé dans des oeufs. (Bull. de l'agric. Bruxelles. (Année XX. 1904. Livr. 3. p. 447—452.)
- Stevensen, Earle C. and Engberg, C. C.**, Variation in the Hooks of the Dog-Tapeworms, *Taenia serrata* and *Taenia serialis*. (Univers. Studies. P. by the Univers. of Nebraska. Vol. IV. 1904. N. 3. p. 191—230.)
- Theobald, Fred. V.**, Notes on the Harvest bug (*Leptus autumnalis*). (Agric. Gaz. Vol. LX. 1904. N. 1602. p. 166.)
- Wagener, O.**, *Oxyuris vermicularis* in der Darmwand. (Dtsches Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXI. 1904. Heft 3/4. p. 328—333. 2 Fig.)
- Wimmer, G.**, Beitrag zur Kenntnis der Nitrifikationsbakterien. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XLVIII. 1904. Heft 1. p. 135—174.)
- Zykoff, W.**, Ergänzungen zur Erkenntnis der Organisation von *Mesostoma Nasonoffii* Graff. (Bull. de la soc. Impér. des Natural de Moscou. Année 1903. N. 2/3. p. 182—187. 1 Taf.)

Biologie.

- Buchner, Eduard und Mitscherlich, Sigurd**, Herstellung glykogenarmer Hefe und deren Anwendung zum Zuckernachweis im Harn. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. XLII. 1904. Heft 5/6. p. 554—562.)
- Grüss, J.**, Untersuchungen über die Atmung und Atmungsenzyme der Hefe. [Forts.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwes. Jg. XXVII. 1904. N. 39. p. 686—692; N. 40. p. 699—704. 1 Fig.)
- Iwanoff, Leonid**, Ueber das Verhalten der Eiweißstoffe bei der alkoholischen Gärung. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. XLII. 1904. Heft 5/6. p. 464—492.)
- Leschtsch, Marie**, Gärung und Atmung verschiedener Hefearten in Rollkulturen. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 1/3. p. 22—28. 3 Fig.)
- Russ, Viktor**, Zur Frage der Bakterizidie durch Alkohol. 1. Mitt. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 1. p. 115—124.)
- Shiga, K.**, Ueber einige Hefefermente. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. XLII. 1904. Heft 5/6. p. 502—507.)
- Stoklasa, Julius, Černý, F., Jelinek, Joh. u. Vitek, Eugen**, Ueber die Isolierung der gärungserregenden Enzyme aus dem Pflanzenorganismus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 1/3. p. 86—95.)
- Will, H.**, Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. 6. Wachstumsform der vier Hefen auf festen Nährböden. [Schluß.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 38. p. 669—674.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

- Biais, A.**, L'eau potable. Etudes chimiques, physiques et bactériologiques. Paris (Maloine) 1904. 14 Fig. 8°. 3 M.
- Cao, Giuseppe**, Contributo allo studio dell' influenza del movimento delle acque sulla vitalità e sulla virulenza dei germi in esse contenuti. [Fine.] (Giorn. d. R. Soc. Ital. d'igiene. Anno XXVI. 1904. N. 8. p. 361—385.)
- Ferdinand-Jean**, Epuration des eaux potables résiduelles. (Journ. d'hyg. Année XXX. 1904. N. 1303. p. 69—74. 1 Fig.)
- Klissowski**, Stérilisation des eaux destinées à la consommation par l'iode libre à l'état naissant. Thèse, de Lyon 1904. 8°.
- Koch, Alfred**, Bodenbakteriologische Forschungen und ihre praktische Bedeutung. (Mitt. d. ökonom. Ges. i. Königr. Sachsen. 1903—1904. Leipzig. p. 16—34.)
- Lutrot, L.**, Epuration des eaux de boisson en campagne. Thèse de Lyon 1904. 8°.
- Nomblot**, Filtration des eaux potables par les procédés américains. Thèse de Lyon 1904. 8°.

Thresh, J. C., The examination of waters and water supplies. London (Churchill) 1904. 8°. 16 M.

Nahrungs- und Genußmittel im Allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

- Klopstock, Martin**, Bakteriologische Untersuchungen über das Sanatogen. (Ztschr. f. diätet. u. physikal. Therapie. Bd. VIII. 1904/05. Heft 7. p. 361—364.)
Pfuhl, E., Beitrag zur bakteriologischen Untersuchung der Fleischkonserven. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XLVIII. 1904. Heft 1. p. 121—134.)
Dr. Wileys Gutachten über die Verwendung von Borsäure und Borax als Konservierungsmittel. (Dtsche Nahrungsmittel-Rundsch. Jg. II. 1904. N. 18. p. 221—224.)

Fleisch.

- Arnal, A.**, De la toxicité des viandes, de celle de pore en particulier. Faut-il empêcher la consommation de cette dernière pendant l'été? Thèse de Montpellier. 1904. 8°. 16 M.
Pfuhl, E., Beitrag zur bakteriologischen Untersuchung der Fleischkonserven. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XLVIII. 1904. Heft 1. p. 121—134.)
Reimers, E., Die Strahlenpilzkrankheit. (Ztschr. f. d. ges. Fleischbeschau. Jg. I. 1904. N. 23. p. 349—353. 3 Fig.)
Walter, Neue Untersuchungen über ein altes Fischgift. (Fischerei-Ztg. Bd. VII. 1904. N. 36. p. 572—575.)

Milch, Molkerei.

- De Waele, H.**, Sur l'obtention de lait cru stérile. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 1/3. p. 30—35.)
Löwenstein, Ernst, Die Wirkung des Formalins auf die Milch und das Labferment. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XLVIII. 1904. Heft 2. p. 239—248.)

Wein, Weinbereitung.

- de Lisy, C.**, Les ennemis du vin. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 72. p. 286.)
Renaud, J., L'aération des mouts. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 76. p. 302.)
Schuch, Julius, Ueber einige neue sogenannte Weinkonservierungs-, Verbesserungsmittel und Weinfarbstoffe. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXI. 1904. N. 38. p. 379—380.)
Seifert, W., Ueber die Einwirkung von Ameisensäure auf in Most und Wein vorkommende Mikroorganismen. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterr. Jg. VII. 1904. Heft 9. p. 667—674.)
 Ueber die Einwirkung von Ameisensäure auf im Most und Wein vorkommenden Mikroorganismen. (Die Weinlaube. Jg. XXXVI. 1904. N. 38. p. 485—486.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

- Bandini, P.**, Sulla disinfezione dei pettini e delle spazzole. (Riv. d'igiene e sanità pubbl. Anno XV. 1904. N. 17/18. p. 631—640.)
Czaplewski, E., Kurzes Lehrbuch der Desinfektion, als Nachschlagebuch für Desinfektoren, Aerzte, Medizinal- und Verwaltungsbeamte, unter Zugrundelegung der Einrichtungen der Desinfektionsanstalt der Stadt Cöln zusammengestellt. Bonn (Hager) 1904. XIV, 104 p. 8°. 2,50 M.
Marsson, M., Die Abwasser-Flora und -Fauna einiger Kläranlagen bei Berlin und ihre Bedeutung für die Reinigung städtischer Abwässer. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. u. Abwässerbeseitg. Berlin. 1904. Heft 4. p. 125—166.)
Meitner, Wilhelm, Ueber Antiputrol, ein neues Desinfektionsmittel aus der Reihe der kresolhaltigen Gemische. (Der Frauenarzt. Jg. XIX. 1904. Heft 9. p. 385—390.)
Salus, Gottlieb, Zur Biologie der Fäulnis. (Arch. f. Hyg. Bd. LI. 1904. Heft 2. p. 97—128. 1 Taf. u. 2 Fig.)
Slawkowsky, Wilh. G. J., Ueber Formaldehyd und seine Bedeutung für die Landwirtschaft. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXX. 1904. N. 37. p. 290—291.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.**Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.**

- A Battle with Pests. (Journ. of agric. of Western Australia. Vol. IX. 1904. P. 6. p. 482—489.)
- Appel, Otto**, Der Steinbrand des Weizens und seine Bekämpfung. (Flugbl. d. k. Gesundheitsamtes 1904. N. 26. 4 p. 1 Fig.)
- , Die Schwarzbeinigkeit und die mit ihr zusammenhängende Knollenfäule der Kartoffel. (Flugbl. d. k. Gesundheitsamtes. 1904. N. 28. 4 p. 2 Fig.)
- Bartschi, J.**, Die Krebskrankheit der Obstbäume und ihre Heilung. (Schleswig-Holst. Ztschr. f. Obst- u. Gartenbau. 1904. N. 9. p. 66—68.)
- Compere, Geo.**, Black scale parasites (*Scutellista cyanea*). (Journ. of agric. of Western Australia. Vol. X. 1904. P. 2. p. 94. 2 Taf. u. 1 Fig.)
- , The introduction of the fruit fly parasite. (Journ. of agric. of Western Australia. Vol. X. 1904. P. 2. p. 68—72.)
- „Die-back“ disease: investigations into. (Journ. of agric. of Western Australia. Vol. X. 1904. P. 1. p. 41—42. 1 Taf.)
- Eckardt, C. H.**, Ueber die wichtigsten, in neuerer Zeit aufgetretenen Krankheiten der Gurken. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. II. 1904. Heft 8. p. 108—112; Heft 9. p. 119—122.)
- Experiments in poisoning the fruit-fly. (Journ. of agric. of Western Australia. Vol. X. 1904. P. 1. p. 27—29.)
- Froggatt, Walter W.**, Experimental Work with the Peach Aphis. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XV. 1904. P. 7. p. 603—613. 2 Taf.)
- Harrison, F. C.**, A bacterial disease of cauliflower (*Brassica oleracea*) and allied plants. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 1/3. p. 46—55. 6 Taf.)
- Heidrich**, Beobachtungen und Bemerkungen über *Nematus*-fraß. (Allg. Forst- und Jagd-Ztg. Jg. LXXX. 1904. p. 281—283.)
- Kiehler, Ulrich**, Die Krankheiten und Schädlinge unserer Obstbäume und die Mittel zu deren Bekämpfung. 5. Aufl. Aarau (Wirk) 1905. (aus Weick, Kultur der Zwergobstbäume.) —, 80 M.
- Knoche, E.**, Beiträge zur Generationsfrage der Borkenkäfer. [Forts.] (Forstwiss. Centralbl. Jg. XXVI. 1904. Heft 7. p. 371—393.)
- Laubert, B.**, Beitrag zur Kenntnis des Gloeosporium der roten Johannisbeere. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 1/3. p. 82—85. 1 Fig.)
- , Die Schwarzfleckenkrankheit (*Rhytisma acerinum*) der Ahornblätter. (Flugbl. d. k. Gesundheitsamtes. 1904. N. 29. 4 p. 2 Fig.)
- Lüstner, Gustav**, Ueber den Drahtwurm. (Mitt. über Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. XVI. 1904. N. 9. p. 133—136. 2 Fig.)
- Mayer, C.**, The codling moth. (Agric. Journ. of the Cape of Good Hope. Vol. XXV. 1904. N. 2. p. 153—157. 8 Fig.)
- Rebholz, F.**, Einiges über die wichtigsten Obstbaum-Schädlinge und ihre Bekämpfung. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. II. 1904. Heft 7. p. 85—87; Heft 8. p. 104—108; Heft 9. p. 116—119.)
- Semadeni, Franc. Ottavio**, Beiträge zur Kenntnis der Umbelliferen bewohnenden Puccinien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 1/3. p. 73—81. 5 Fig.)
- Störmer, K.**, Ueber die Wasserröste des Flachses. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 1/3. p. 35—45.)
- Thaler**, Waldschädlinge des Jahres 1902. (Allg. Forst- u. Jagd-Ztg. Jg. LXXIX. 1904. p. 400—404.)
- Thelen**, Rüben- und Erbsennematode. (Dtsche Landw. Presse. Jg. XXXI. 1904. N. 77. p. 659.)
- v. Werenbach, Franz**, Bericht über das Auftreten der Reblaus in Kaltern (Tirol) im Jahre 1904. N. 39. p. 500—502.)

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

- Wagner, Fr.**, Die Bekämpfung der Blattläuse und des Rußtaus bei Hopfen durch Eintauchen der Pflanzen in Schmierseifenlösung. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. II. 1904. Heft 7. p. 87—93.)

Inhalt.

**Originalreferate aus bakteriol. und
gärungsphysiologischen Instituten,
Laboratorien etc.**

Aus der wissenschaftlichen Station für
Brauerei in München.

Will, H., Vergleichende Untersuchungen
an vier untergärigen Arten von Bier-
hefe, p. 449.

Referate.

Aderhold, R., Ueber eine vermutlich
zu *Monilia fructigena* Pers. gehörige
Sclerotinia, p. 485.

Baudisch, F., Notizen über *Septoria*
parasitica R. H., *Fusoma Pini* R. H.
und *Allescheria Laricis* R. H., p. 474.

Brisi, V., Sulla *Botrytis citricola* n. sp.,
parassito degli agrumi, p. 470.

—, Sulla malattia degli olivi denomi-
nata „brusca“, p. 470.

—, Una malattia dell' endivia, p. 471.

Bubák, Fr., Neue Krankheit der Zucker-
rübe in Böhmen, p. 468.

—, Versuche zur Vernichtung von
Wurzelbrand der Zuckerrübe (*Rhizoc-*
tonia violacea Tul.) im Erdboden,
p. 469.

Causemann, Einiges zum Schluß-
artikel des Herrn Prof. Dr. Stutzer
über die Nutzbarmachung des Luft-
stickstoffs, p. 457.

Coupin, H. und Friedel, S., Sur la
biologie du *Sterigmatocystis versic-*
olor, p. 460.

Cuboni, G. e Megliola, G., Sopra una
malattia infesta alle culture dei funghi
mangerecci, p. 461.

Dangeard, Nouvelles considérations
sur reproduction sexuelle des cham-
pignons supérieurs, p. 455.

Delacroix, G., Rapport sur une ma-
ladie des asperges dans les environs
de Pithiviers, p. 463.

—, Sur une altération des tubercules
de pomme de terre dans la région
avoisinante Paris pendant le mois de
septembre 1903, p. 463.

—, Sur un chancre du Pommier par le
Sphaeropsis Malorum Peck, p. 463.

—, Sur l'identité réelle d. *Sphaeropsis*
Malorum Peck, p. 464.

—, A propos de *Stromatinia Linhartiana*
Prill. et Del. (*Sclerotinia Cydoniae*
Schellenberg), p. 465.

Bokstein, K., Der Riesenbastkäfer
Hylesinus (*Dendroctonus*) *micans*
Kug., p. 475.

Hecke, Ludwig, Ein innerer Krank-
heitskeim des Flugbrandes im Ge-
treidekorn, p. 462.

Hollrung, M., Bericht der Versuchs-
station für Pflanzenkrankheiten in
Halle a. S. über die während des
Jahres 1903 in Mitteldeutschland be-
obachteten Krankheiten der Zucker-
rüben, p. 467.

Istvánffy, Gy., Két új szőlőkárosító
hazánkban. (Zwei neue Rebenschäd-
linge in Ungarn), p. 471.

Kornauth, Karl, Ueber im Jahre 1903
beobachtete Pflanzenkrankheiten, p.
461.

von Lagerheim, G., Om af svamp
angripna fikon och dadlar, p. 466.

Linhart, G., Die *Peronospora recte*
Pseudoperonospora - Krankheit der
Melonen und Gurken in Ungarn, p.
466.

Malkoff, C., Die Cicade *Tettigonia*
viridis L. als Schädiger der Obat-
bäume in Bulgarien, p. 474.

Nobbe und Richter, Ueber die Nach-
wirkung einer Bodenimpfung zu
Schmetterlingsblütlern auf andere
Kulturgewächse, p. 457.

Störmer, K., *Peritelus griseus* Oliv.,
ein neuer Schädling am Hopfen aus
der Familie der Rüsselkäfer, p. 474.

Stutzer, Die Nutzbarmachung des
Stickstoffs der Luft für die Pflanzen,
p. 455.

Viala, P. et Pacottet, P., Sur les
verruques des feuilles de la vigne, p. 473.

Vuillemin, P., Sur les variations spon-
tanées du *Sterigmatocystis versicolor*,
p. 460.

Wender, N. und Lewin, D., Studien
über die Triebkraft der Hefe, p. 458.

—, Ueber Sauerstoffgärung, p. 459.

Wichmann, H., Notiz zur Lebens-
dauer der Kulturhefe, p. 458.

Will, H. und Braun, R., Bemerkungen
zu der Mitteilung von Hjelte Clausen:
Ueber die Sarcinakrankheit des Bieres
und ihre Erreger, p. 459.

Neue Litteratur, p. 475.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof.
Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr.
Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W. 50, Schaperstr. 2/3 I.
und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XIII. Band. Jena, den 11. November 1904. **No. 16/17.**

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

**Ueber einige bakteriologische Wasseruntersuchungen
im Atlantischen Ozean.**

[Aus dem Seemannskrankenhaus und Institute für Schiffs- und
Tropenkrankheiten in Hamburg.]

Von

Dr. med. Moritz Otto, und Dr. med. et phil. R. O. Neumann,
int. klin. Assistenten am Seemanns-
krankenhaus und Institut f. Schiffs-
und Tropenkrankheiten zu Hamburg. Privatdozenten a. d. Universität Kiel,
z. Z. aggreg. dem Seemannskranken-
haus und Institut für Schiffs- und
Tropenkrankheiten zu Hamburg.

Mit 1 Kartenskizze und 3 Figuren.

Bakteriologische Untersuchungen von Wasserproben auf hoher
See sind im Gegensatz zu den Wässern des Binnenlandes noch

Zweite Abt. Bd. XIII.

31

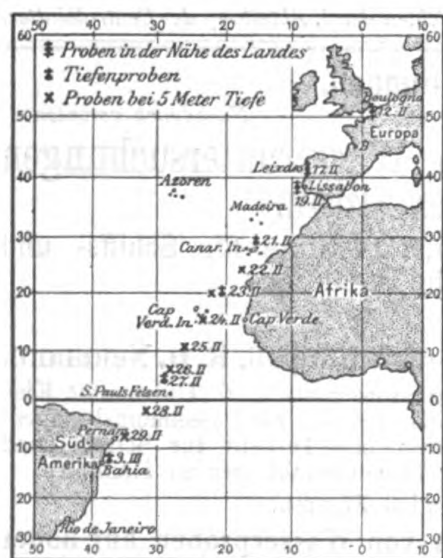
verhältnismäßig wenig ausgeführt worden. Der Grund hierfür dürfte allein in den technischen Schwierigkeiten zu suchen sein, die sich der Probeentnahme und der Analyse des Wassers auf den Schiffen entgegenstellen.

Da ein Laboratorium mit den nötigen Utensilien wenigstens auf Handelsschiffen nicht vorhanden ist, so muß man sich einerseits mit recht primitiven Mitteln helfen und andererseits gehört die Entnahme des Wassers aus größeren Tiefen während der Fahrt zu den allerschwierigsten Manipulationen. Es wird sich auch kaum der Kapitän eines mit eilender Geschwindigkeit dahinfliegenden Postdampfers bereit finden, sein Schiff deswegen von Zeit zu Zeit zu stoppen. Infolgedessen wurden systematische Untersuchungen über die Bakterienflora im Ozean in größeren Tiefen auch bisher nur auf Expeditionen, z. B. B. Fischer, Planktonexpedition (3) ausgeführt. Prüfungen von Oberflächenwasser und von Wasser aus geringeren Tiefen verschiedener Meere stellte Bassenge (B. Fischer) (2) und B. Fischer (2) auf Marinefahrzeugen an, während Minervini (1) auf einem Passagierdampfer im Atlantischen Ozean die Keimzahl festzustellen suchte. Untersuchungen über die Gewässer in der Nähe des Landes, z. T. auch bis zum Meeresgrunde herab, liegen von Cassedebat (7) aus dem Hafen von Oran (Algier), De Giaksa (5), Sanfelice (6) und Russell (4) aus dem Golf von Genua vor.

Unsere bakteriologischen Prüfungen, die wir gelegentlich unserer Reise zum Studium des Gelbfiebers nach Brasilien auf dem Atlantischen Ozean angestellt haben, erstrecken sich auf 80 Probenentnahmen, von denen ca. $\frac{2}{3}$ als einwandfrei gelungen bezeichnet werden dürfen. Der Rest mußte außer Betracht bleiben. Ebenso wie De Giaksa, Russell und Cassedebat haben wir in der Nähe des Landes, in unserem Falle 4—8 Seemeilen von Boulogne, Leixoes (Portugal) und Lissabon Proben von der Oberfläche

und aus einigen Metern Tiefe entnommen. Weiterhin sind während der Ueberfahrt von Portugal nach Brasilien 10 Tage lang Wasserproben aus 5 m Tiefe untersucht worden und endlich haben wir an 4 Punkten des Ozeans in der Nähe der Kanarischen Inseln, bei den Kap Verdischen Inseln, nördlich vom Aequator bei S. Pauls Felsen und zwischen Pernambuco und Bahia bei ca. 5, 50, 100 und 200 m Tiefe Proben geschöpft (s. Kartenskizze).

Die Probeentnahme vollzog sich bei Oberflächenwasser und bei geringen Tiefen mittels des bekannten, nach dem Prinzip von Russell konstruierten Appa-



rates I (Fig. 1)¹⁾, welcher mit schwerem Gewicht bei ruhiger See und langsamer Fahrt anwendbar ist, in einwandfreier Weise.

Wurde jedoch der Kurs des Schiffes auch nur etwas beschleunigt, oder die Wasserfläche bewegter, dann genügte das verstärkte Gewicht nicht mehr, um den Apparat senkrecht im Wasser zu halten. Das 8 kg schwere Instrument wurde wie eine Feder schwimmend auf dem Wasser nachgezogen und das Fallgewicht schlug wegen des Wasserwiderstandes nicht in genügender Weise herab.

Bei dieser Sachlage mußte von dem Apparat in seiner derzeitigen Form für größere Tiefen bei schneller Fahrt Abstand genommen werden, zumal die Kette ein so rasches Nachziehen im Strom nicht aushielt.

Nach mancher Ueberlegung verfielen wir als Ersatz für die Kette auf die Lotleine des Schiffes, die auf dem Steuermaschinenhause des Achterdecks zu dauernden Lotungen angebracht war. Ihre Länge betrug ca. 200 Faden (= 360 m) und endigte in einem 30 kg schweren Bleigewicht. Bei dieser Schwere ließ sich erwarten, daß das Probegläschen leicht in die gewünschte Tiefe würde versenkt werden können.

Wir banden zunächst ein einfaches, 50 ccm haltendes Medizinfläschchen oberhalb des schweren Gewichtes an die Lotleine und versuchten mittels einer zu gleicher Zeit herabgelassenen Schnur in den gewünschten Tiefen den Pfropfen aus dem Glase herauszuziehen.

Der Versuch gelang zwar, doch lief beim Heraufziehen das Wasser aus der Flasche wieder heraus oder mischte sich mit Wasser aus anderen, geringeren Tiefen. Auch der Wechsel des Glases mit einem solchen von Apparat Fig. 1, bei welchem die ausgezogene Spitze unter Wasser mittels Schnur abgebrochen wurde, befriedigte nicht. Da die mit herabgelassene Leine offenbar ein Hemmnis in der Handhabung des Apparates bildete, schalteten wir (s. Fig. 2) am Ende der Lotleine zwischen Drahtseil und Bleigewicht den ganzen Apparat I ein und ließen das Fallgewicht desselben gleichzeitig mit dem Apparat herunter. Um das Abschlagen zu ermöglichen, wurde eine Art Fallschirm aus Messing (in Fig. 1 bei *c* angedeutet) am oberen Teil des Fallgewichtes angebracht, welcher erst zur Wirkung kam, wenn die Leine wieder angezogen wurde. Die neue Einrichtung funktionierte bei langsamer Fahrt; bei größerer Schnelligkeit zertrümmerten aber die Wogen fast jedesmal das eingeschaltete Glas, indem das Fallgewicht vorzeitig wirkte.

Nachdem in dieser Richtung jeder weitere Versuch nutzlos erschien, schalteten wir den ganzen Apparat I vollständig aus und setzten an Stelle desselben einen nach unseren Angaben vom 1. Maschinisten des „Prinz Eitel Friedrich“, Herrn Stehr, freundlichst konstruierten Kupfercylinder (Fig. 3), der am Ende der Lot-

1) Das Prinzip besteht darin, daß von einem luftleer gemachten und zu langer Spitze ausgezogenen Glasröhrchen *a* die Spitze durch das Fallgewicht *b* in der gewünschten Tiefe abgeschlagen wird. Das Gläschen saugt sich alsdann im Augenblick voll Wasser.

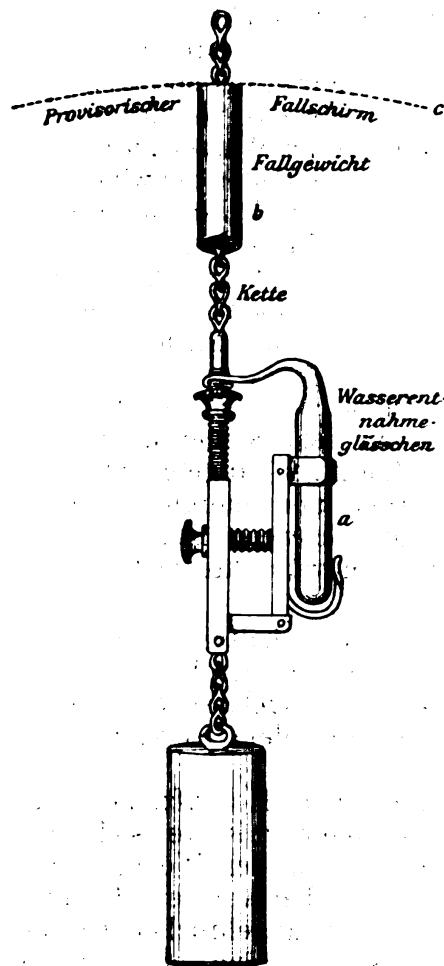


Fig. 1 (Apparat I).

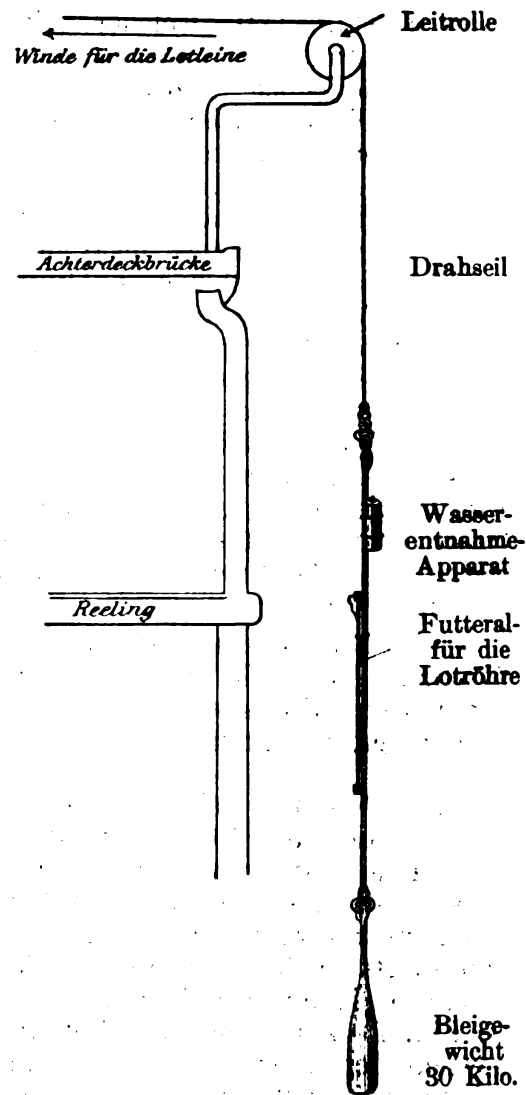


Fig. 2.

leine an einem Seil festgebunden wurde (Fig. 2). Das Ende bildete das 30 kg schwere Bleigewicht.

Der neue Apparat ist im ganzen recht einfach. Der kleine Kupfercylinder ist oben und unten mit einer 6-löcherigen Messingplatte *a* versehen, welche mittels dünner Platten von Dichtungsgummi verschlossen wird. Die Gummiplättchen werden durch Schrauben (*b* und *c*) festgehalten. Bei *c* kann das gewonnene Wasser abgelassen werden. Wenn nun der Apparat mit dem Riesengewicht in die Tiefe hinabjagt, werden die Gummiplatten gehoben; das Wasser schießt durch den Apparat hindurch. Zieht man die Lotleine an, dann entsteht durch den enormen Druck sofort ein dichter Verschuß der Eintritts- und Ausflußöffnungen und man faßt damit sicher das in der gewünschten Tiefe eingedrungene Wasser.

Daß bei dem, während der Hebung des Apparates mehr und mehr sich vermindern den Druck eine Mischung des Wassers im Apparat und des der höheren Schichten eintrete, ist nicht zu befürchten, da der Apparat trotz des sehr schweren Gewichtes alsbald im Kielwasser des Schiffes nachgezogen wird und die Gummipplatten dauernd einen energischen Druck auszuhalten haben. Der letztere kann daraus ermessen werden, daß zwei kräftige Matrosen mit voller Kraft an der Winde arbeiten mußten, um die Leine einzuholen.

Nach unseren Beobachtungen entspricht der Apparat allen billigen und praktischen Anforderungen, da er einfach und kompensiös, nicht zerbrechlich und in kochendem Wasser leicht sterilisierbar ist. Der Einwand, daß andere Wassermengen, welche man nicht untersuchen will, beim Herunterlassen erst den Apparat passieren, und ihn event. verunreinigen könnten, ist für praktische Zwecke hinfällig, da von der vorhergehenden, höher liegenden Wasserzone kaum Spuren darin bleiben.

Bei der Literaturdurchsicht fanden wir eine Reihe Angaben über Apparate, die für Meeresuntersuchungen resp. für Tiefseeproben konstruiert sind, so unter andern von Masea, Selavo (10), Sigsbee, Roux, Tursini, Cruz (12), Johnston (9), Praum (8), Russell (4), Rietsch, Fischer (2). Diese Apparate sind jedoch meist nur berechnet und zu gebrauchen bei ruhiger See und stillstehendem Schiff. Ob auch der von Fischer verbesserte Sigsbeesche Apparat aus Metall, welcher offenbar der vollkommenste aller bisher beschriebenen ist, die Probe bei eilender Fahrt bestanden hat, ist uns nicht bekannt.

Eine andere Schwierigkeit bei Entnahme der Tiefseeproben ist die genaue Bestimmung der Tiefe, in der das Wasser aufgefangen wird. Dadurch, daß bei voller Fahrt des Schiffes auch ein sehr schweres Senkblei in die Höhe gehoben und nachgezogen wird, vermindert sich die Tiefe des mit der Lotleine versenkten Apparates. Man kann nun zwar mathematisch aus der Geschwindigkeit des Schiffes, der Schwere des Senkgewichtes und der abgelassenen Fadenlänge den Auftrieb der letzteren berechnen, die Resultate sind aber zu sehr abhängig von der Strömung und der Bewegung des Meeres. Aus diesem Grunde bedient man sich in Schiffskreisen zur Ermittlung der geloteten Tiefe neuerdings vielfach der „Lotröhre“, einer in einer Blech- oder Messinghülse befindlichen Glas-

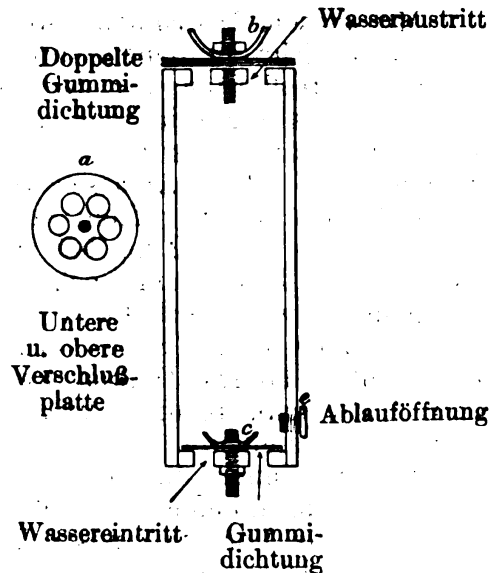


Fig. 3. Querschnitt. $\frac{1}{2}$ nat. Größe.

röhre, die am Ende der Lotleine, oberhalb des Senkgewichtes befestigt ist (Fig. 2). Tritt beim Hinunterlassen der Röhre Seewasser in die mit chromsaurem Silber ausgelegte Lotröhre ein, dann verfärbt sich die rote Masse nach Maßgabe des in der Tiefe vorhandenen Druckes von unten nach oben weiß. An einer Skala läßt sich die gewonnene wirkliche Tiefe ohne weiteres ablesen.

Mit diesem Instrument, welches uns vom Kapitän des „Prinz Eitel Friedrich“ in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt wurde, kontrollierten wir den Tiefgang unseres Wasserentnahmeapparates. Es zeigte sich, daß sich der Apparat fast stets nur in einer Tiefe, der Hälfte des abgelaufenen Drahtseiles entsprechend, befunden hatte. Beim Ablassen von 50 Faden Seil = 90 m schöpfte der Cylinder in einer Tiefe von 48 m, bei 100 Faden = 180 m in einer Tiefe von 92 m, bei 200 Faden = 360 m in einer Tiefe von 170 m. Durch ein noch schwereres Senkgewicht hätte man den Apparat wohl noch tiefer bringen können, allein das Einholen des 200 Faden langen Seiles verursachte stets ein sehr angestregtes 10 Minuten langes Drehen zweier Matrosen an der Lotkurbel, auch durfte man an die Festigkeit der Lotleine nicht zu hohe Anforderungen stellen.

Wir begannen unsere Untersuchungen, bevor wir den Hafen von Boulogne anliefen. Das Wetter war windig, die See ziemlich aufgeregt, als Vorbote eines 6 Tage lang dauernden seltenen Unwetters, welches bis Leixoes anhielt. Mittels des Apparats I entnahmen wir Proben von 1–30 m Tiefe und fanden bei 1 m 660, bei 5 m 390, bei 10 m 200, bei 15 m 310 und bei 30 m 160 Keime. Die Zahlen entsprachen ganz den in der Nähe des Landes (wir befanden uns ca. 4 Seemeilen von Boulogne) von anderer Seite gemachten Erfahrungen, auf die wir unten noch zurückkommen werden.

Weit größere Bakterienmengen fanden wir vor der Hafeneinfahrt von Leixoes, da nach dem Unwetter der Meeresgrund bedenklich aufgewühlt war und viele Seemeilen vom Lande entfernt eine gelbe Farbe angenommen hatte. Bei 5 m zählten wir weit über 10000 Keime im Kubikcentimeter, bei 10 m noch über 8000, bei 15 m 4000, bei 30 m 1000. Da die Lotungen nur eine Wassertiefe von 50 m ergaben und andererseits unweit von Leixoes der Douro ins Meer mündet, so finden die hohen Zahlen ihre Erklärung. Nichtsdestoweniger konstatierten wir, wie auch vor Boulogne, eine Abnahme des Keimgehaltes nach der Tiefe zu.

Die gewaltigen gelben Wassermassen, welche sich aus den großen Flüssen der iberischen Halbinsel ins Meer wälzen, geben bis weit hinaus demselben ihre Färbung. Bei Lissabon z. B. kann man bis zu 50 Seemeilen von der Stadt entfernt das Wasser des Tajo verfolgen, welches merkwürdigerweise dann schnurgerade von dem grünblauen Ozean abschneidet. In diesen Ausläufern des Stromes findet man aber nicht die enorme Bakterienzahl wie im Strome selbst. Schon etwa 3 Seemeilen unterhalb der Stadt Lissabon, wo der Tajo eine Breite von ca. 8–9 Seemeilen aufweist, beträgt der Keimgehalt nur 370, 4 Meilen weiter ins Meer hinaus

nur ca. 300, 12 Seemeilen von der Stadt 80, 20 Seemeilen von der Stadt nur 60 Keime. Durch die Verdünnung tritt also eine erhebliche Abnahme ein.

Die auf hoher See gefundenen Bakterienmengen sind gering und betragen inmitten des ganzen Ozeans auf unserer durchfahrenen Strecke bei 5 m Tiefe im Maximum nur 120, im Mittel nur 60 Keime. In tieferen Schichten scheinen die Bakterien bis zu 50 resp. 100 m etwas zuzunehmen, um alsdann bei 200 m fast zu verschwinden.

Folgende Tabelle, welche auch die Länge und Breite der Entnahmestellen, die Wassertemperatur, Seerichtung und Seegang angibt, zeigt die gewonnenen Resultate genauer wieder.

Datum	Zeit der Entnahme	Breite und Länge der Entnahmestelle	Wassertemperatur	Richtung, aus welcher die See läuft	Stärke des Seeganges	Entfernung vom Land	Keimgehalt und Tiefe in Metern							
							bis 1	5	10	15	30	50	100	200
1904 12. II.	2 Uhr	50° 30' N. B. 1° 30' O. L.	8,5°	NW.	2	4 Seemeilen vor Boulogne	660	390	200	310	160	—	—	—
17. II.	11 "	41° 10' N. 8° 30' W.	11°	NW.	5	6 Seemeilen vor Leixoes	—	über 10 000	8000	4000	1000	—	—	—
19. II.	10 "	39° N. 9° 30' W.	13°	NNW.	4	8 Seemeilen von Lissabon	60	—	—	—	—	—	—	—
21. II.	10 "	29° 56' N. 15° 23' W.	15,2°	O.	2	Hohe See, Nähe der Canarischen Inseln	—	120	—	358	—	76	20	1
22. II.	10 "	25° 18' N. 17° 42' W.	17,9°	ONO.	3	desgl.	—	98	—	—	—	—	—	—
23. II.	2 "	20° 42' N. 20° 13' W.	18°	NO.	3	Nähe der Kap Verdischen Inseln	—	58	—	—	—	16	64	6
24. II.	10 "	16° 8' N. 22° 35' W.	19,5°	NO.	3	desgl.	—	84	—	—	—	—	—	—
25. II.	10 "	11° 35' N. 24° 43' W.	22°	NO.	3	desgl.	—	68	—	—	—	—	—	—
26. II.	10 "	7° 15' N. 27° 5' W.	24°	NO.	2—3	desgl.	—	42	—	—	—	—	—	—
27. II.	11 "	2° 41' N. 29° 6' W.	26°	NNW.	3	Nähe von S. Pauls Roque	—	20	—	—	—	482	54	4
28. II.	10 "	1° 55' S. 31° 24' W.	26,8°	NO.	2	desgl.	—	40	—	—	—	—	—	—
29. II.	10 "	6° 27' S. 33° 46' W.	25,3°	SO.	2	desgl.	—	30	—	—	—	—	—	—
3. III.	3 "	11° 6' S. 35° 5' W.	25,5°	SSO.	2	Zwischen Pernambuco und Bahia	—	48	—	—	—	168	83	14

Die Angaben in der Literatur über die Bakterienmenge im Meer sind recht verschieden und zum Teil widersprechend. Alle

stimmen aber darin überein, daß die Zahl der Keime vom Lande nach dem offenen Ozean hin abnimmt. So berichtet De Giæxa (5), daß im Golf von Neapel bei 50 m vom Land mehrere Hunderttausend gezählt wurden, 350 m vom Land 26000 und 3 km entfernt nur noch ca. 100 Keim. Ebenso fand Cassedebat (7) im Hafen von Oran an der algerischen Küste hart am Lande unzählige Bakterien, 2 km entfernt aber nur 33 Keime. Auch Sanfelice (6) bestätigt dies. B. Fischer (3) machte die Beobachtung, daß über 5 km hinaus vom Lande entfernt die Zahl der Bakterien nicht weiter abnehme; Russell (4) fand dasselbe aber erst bei 15 km. Es wurde dabei auch behauptet, daß auf hoher See keine Bakterien zu finden seien, die vom Lande stammen. Letzteres dürfte aber schwer zu beweisen sein, da man im Meerwasser viele Arten findet, die auch im Flußwasser vorhanden sind. Im allgemeinen ist die Zahl der im offenen Meerwasser vorkommenden Bakterien gering, jedenfalls viel geringer als in den Binnenmeeren. B. Fischer (2, 3) hat durch seine weitgehenden Untersuchungen auf offener See und in den verschiedensten Häfen und Ankerplätzen dies mit großem Material bewiesen. Er fand in 121 Proben der Ozeanoberfläche 7mal 0 Keime, 49mal 1–25, 12mal 26–50, 8mal 51–100, 13mal 101–250, 7mal 251–500, 13mal 501–1000, 6mal 1001–5000, 4mal 5000–10000, 2mal über 10000. Sein Schluß geht dahin, daß Binnenmeere meist unter 500 Keime, der Ocean unter 250 Keime an der Oberfläche enthält und daß ein Meeresoberflächenwasser, das mehr als 500 Bakterien aufweist, als verunreinigt angesehen werden müsse. Auf einigen Stellen des Ozeans sollen überhaupt keine Bakterien nachzuweisen sein.

In betreff der geringen Keimzahl im Meerwasser und der Verringerung der Bakterien vom Lande nach dem Meere hin, stimmen unsere Resultate gut mit denen der anderen Autoren überein, dagegen weichen unsere Zahlen in größeren Tiefen ab. Während Russell nach seinen Untersuchungen im Golf von Neapel zu dem Schlusse kommt, daß in den mittleren, unteren und oberen Schichten eine ganz gleichmäßige Verteilung der Bakterien anzutreffen ist, Cassedebat eine rapide Abnahme nach der Tiefe zu konstatiert, meint B. Fischer (2), daß die Ergebnisse der Untersuchungen von Bassenge für eine Zunahme der Keime sprächen. Fischer selbst findet gelegentlich aber auch im Kieler Hafen eine Abnahme nach der Tiefe zu. In Meerestiefen von 400 m konnte er regelmäßig Bakterien antreffen, auch bis zu 1100 m; bei 1523 und 5210 m im Ozean dagegen fanden sie sich nicht mehr. Russell ermittelte aus Schlamm bei 1100 m noch 24000 Keime im Kubikcentimeter.

Unsere Ergebnisse an den 4 genannten Punkten des Atlantischen Ozeans sprechen eindeutig dafür, daß wenigstens von 50 bis zu 200 m Tiefe entschieden eine Abnahme stattfindet. Es wurden gezählt:

	5	50	100	200 m
Kanarische Inseln	120	76	20	1
Kap Verdische Inseln	58	16	64	6
S. Pauls Felsen	20	480	54	4
Pernambuco	48	168	83	14

Daß an der Oberfläche oder wenig unter ihr eine geringere Menge Keime aufgefunden wurden als wie bei 50 m Tiefe, dürfte wohl, wie auch andere Autoren annehmen, auf die desinfizierende Kraft der Sonnenstrahlen zurückzuführen sein. Fischer konstatierte ebenfalls am Aequator an der Oberfläche sehr wenig Keime, in der Tiefe mehr, auch traf er am Nachmittag weniger Keime an, als am Morgen. Die gefundene Keimzunahme in der Tiefe des Meeres dürfte vielleicht damit sich erklären lassen, daß Strömungen in gewissen Tiefen, die wir sicher nicht alle kennen, Bakterien aus höheren oder ganz tiefen Schichten mitführen. Es möchte dafür auch die Beobachtung Rusells von der gleichmäßigen Verteilung der Bakterien in verschiedenen Tiefen im Golf von Neapel sprechen, wo vielleicht keine tieferen Strömungen vorhanden sind.

Eine Abnahme nach der Tiefe zu ist eher plausibel, da sich die Lebensbedingungen für die Bakterien jedenfalls dort verschlechtern. Es liegt aber auch die Möglichkeit vor, daß wir die in der Tiefe lebenden Bakterien auf unseren Nährböden nicht alle wiederfinden. Wir haben jedenfalls nur auf aërobe Bakterien gefahndet, und unsere Angaben sollen auch nur auf solche sich beziehen. Auf die Diagnose aller gefundenen Bakterien sind wir nicht eingegangen. Wir erhielten auf unseren Platten im wesentlichen Coli-ähnliche Bakterien und Fluorescentes, zum Teil auch Proteus-ähnliche Verflüssigende, zum Teil weiße und gelbliche nicht verflüssigende Stäbchenkolonien. Einzelne Vibrionen und verschiedene Male Schimmelpilze vervollständigten das nicht sehr mannigfaltige Bild.

Literatur.

- 1) Minervini, R., Einige bakteriologische Untersuchungen über Luft und Wasser inmitten des Nordatlantischen Ozeans. (Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. XXXV. p. 165.)
- 2) Fischer, B., Untersuchungen über die Verunreinigung des Kieler Hafens. (Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. XXIII.)
- 3) — —, Die Bakterien des Meeres nach den Untersuchungen der Planktonexpedition unter gleichzeitiger Berücksichtigung einiger älterer und neuerer Untersuchungen. (Ergebnisse der Planktonexpedition. Bd. IV. Kiel, Leipzig 1894.)
- 4) Russell, H., Untersuchungen über im Golf von Neapel lebende Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. IX. p. 165.)
- 5) De Giaksa, Ueber das Verhalten einiger pathogener Mikroorganismen im Meerwasser. (Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. VI. p. 172.)
- 6) Sanfelice, Ricerche batteriologiche dell' acqua del mare etc. (Bolletino della Societate des Naturalisti in Napoli. 1889.)
- 7) Cass edebat, De l'action de l'eau de mer sur les microbes. (Revue d'hygiène. 1894. No. 2.)
- 8) Praum, Einfacher Apparat zur Entnahme von Wasserproben aus größeren Tiefen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIX. 1901. p. 994.)
- 9) Johnston, W., On the collection of samples of water for bacteriological analysis. (Canadian Record of Science 1892. Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. XI. 1892.)
- 10) Sclavo, Di un nuovo apparecchio per la presa dell' acqua a profondità. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. XV. 1894. p. 507.)
- 11) Fischer, B., Ueber das Grundwasser von Kiel mit besonderer Berücksichtigung seines Eisengehaltes etc. (Angabe eines Apparates für Proben aus größerer Tiefe.) (Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. XIII. p. 251.)
- 12) Craz, C., Un nouvel appareil pour la recolte des eaux à différentes profondeurs pour l'analyse des microbes. Rio de Janeiro (Leutinger et Filhos) 1893. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. XVI. 1894. p. 257.)

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Atmung und alkoholische Gärung der Mucoraceen.

Von S. Kostytschew.

Mit 8 Kurven im Text.

Obschon die Produktion des Aethylalkohols im Pflanzenreiche sehr verbreitet ist, müssen wir dennoch auf Grund der unsterblichen Entdeckungen Pasteurs¹⁾ und der neueren trefflichen Untersuchungen Buchners und seiner Mitarbeiter²⁾ zwei Kategorieen von Organismen scharf unterscheiden. Zur ersten Kategorie gehören Organismen, welche hauptsächlich Gärungserreger sind und deren Betriebswechsel sich durch das ökonomische Prinzip nicht regulieren läßt (typischer Repräsentant *Saccharomyces cerevisiae*). Zur zweiten Kategorie gehören Organismen, welche ausschließlich oxydierende Vorgänge hervorrufen und eine mehr oder weniger vollständige Verbrennung des Betriebsmaterials bewirken (typischer Repräsentant *Aspergillus niger*); die Existenz dieser Organismen ist an die Anwesenheit des Sauerstoffes unlösbar geknüpft. Daher hat man die Möglichkeit, die beiden physiologischen Typen leicht und sicher zu erkennen: Wird ein gärungserregender Organismus auf Zuckersubstanz gezogen, so weist er folgende physiologische Eigentümlichkeiten auf:

1) Das Verhältnis von $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ bei dem Gaswechsel ist auch bei ausgezeichneten Aërationsbedingungen bedeutend > 1 ³⁾; die alkoholische Gärung wird also durch Sauerstoff nicht zum Stillstand gebracht.

2) Das Verhältnis von $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ ist > 1 auch in dem Falle, wenn neben Zucker andere Stoffe zugegen sind, welche zur üppigen Entwicklung des betreffenden Organismus dienen können; die Alkoholgärung ist ein Prozeß enzymatischer Natur, und Zucker kann dabei durch keine anderen Stoffe ersetzt werden⁴⁾.

3) Bei Sauerstoffabschluß ist die CO_2 -Produktion, unter sonstigen gleichen Bedingungen, ebenso ausgiebig wie bei Sauerstoffzutritt⁵⁾.

Für einen oxydierenden Organismus sind bei Zuckerernährung folgende physiologische Merkmale charakteristisch:

1) Das Verhältnis von $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ bei dem Gaswechsel ist meistens geringer oder nur wenig größer als 1.

1) Pasteur, Etudes sur la bière. Paris 1876.

2) Buchner, E., Buchner, H. und Hahn, M., Zymasegärung. 1903.

3) Iwanowsky, Abhandl. d. St. Petersb. Akad. d. Wissensch. Bd. LXXIII. 1894. Lief. 2. [Russisch.]

4) Richter, A., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 787 u. Bd. X. 1903. p. 438.

5) Buchner, E., Buchner, H. und Hahn, M., l. c. p. 368.

2) Bei Sauerstoffabschluß ist die CO_2 -Produktion unbedeutend und nimmt mit der Zeit sehr rasch ab¹⁾. Diese schwache und kurzdauernde Kohlensäureausscheidung bei Luftabschluß ist die echte, typische, intramolekulare (anaërobe) Atmung. Obschon bei diesem Prozesse neben anderen Produkten auch Aethylalkohol produziert wird, darf man doch, nach meiner Meinung, die intramolekulare Atmung mit der Alkoholgärung kaum ohne weiteres identifizieren; vielmehr scheint diese kurzdauernde CO_2 -Ausscheidung eine natürliche Fortsetzung der bei Luftzutritt sich abspielenden Vorgänge zu sein, welche durch die Sauerstoffentziehung nicht momentan erlöschen.

Wenn so häufig von der Identität der anaëroben Atmung mit der Alkoholgärung gesprochen wird, so läßt sich dies wahrscheinlich dadurch erklären, daß bei der Auswahl der Versuchsobjekte auf die Existenz der beiden oben besprochenen physiologischen Typen soweit noch keine Rücksicht genommen wurde. Es ist aber einleuchtend, daß zwischen den beiden Extremitäten eine Anzahl von Uebergangstypen existiert, zwischen denen man auch solche trifft, die gleichzeitig mit der anaëroben Atmung, welche vielleicht allen Organismen ohne Ausnahme eigen ist, eine mehr oder weniger typische Alkoholgärung hervorzurufen im stande sind. Es scheint mir z. B. kaum zweifelhaft zu sein, daß *Vicia Faba* und *Pisum sativum*, mit denen so manche Versuche ausgeführt worden sind, zu solchen Uebergangstypen gehören. Das Studium derartiger Typen gewährt aus mehr als einem Grunde Interesse: Erstens könnte die Möglichkeit eintreten, die Beziehung der intramolekularen Atmung zur Alkoholgärung aufzuklären, zweitens ist auch ein Zusammenhang zwischen Alkoholgärung und Sauerstoffatmung nicht ganz unwahrscheinlich. Dieser Gedanke wurde von Mazé²⁾ ausgesprochen; neuerdings ist diese Ansicht auch von Godlewski³⁾ vertreten worden.

In der vorliegenden Abhandlung beabsichtige ich, festzustellen, ob verschiedene Kategorieen von Uebergangsorganismen existieren, welche gleichzeitig mit der ausgiebigen Sauerstoffatmung auch Alkoholgärung hervorrufen. Für meine Untersuchungen habe ich die Mucoraceen, eine in physiologischer Hinsicht höchst interessante, doch leider nur sehr ungenügend untersuchte Familie der Schimmelpilze, ausgewählt⁴⁾.

Die in dieser Arbeit beschriebenen Versuche beziehen sich auf 3 Arten: *Mucor stolonifer*, *Mucor mucedo* und *Mucor racemosus*. Die beiden letztgenannten Arten wurden bereits

1) Diakonow, Berichte d. deutsch. botan. Gesellsch. Bd. IV. 1886. p. 1. — Kostytschew, ebenda. Bd. XX. 1902. p. 329.

2) Mazé, Annal. de l'Inst. Pasteur. T. XVI. 1902. p. 192, 346, 433.

3) Godlewski, Bull. de l'acad. d. sc. de Cracovie. 1904. Mars. p. 15. Dabei macht aber Godlewski keinen Unterschied zwischen intramolekularer Atmung und Alkoholgärung.

4) Da es sich in verschiedenen Fällen als notwendig erwies, eine gute Aëration zu erzielen, so wurden ausschließlich niedere Organismen als Versuchsobjekte angewandt.

von Pasteur untersucht¹⁾; diese trefflichen Versuche haben den Beweis geliefert, daß *Mucor mucedo* den Alkoholgehalt der Nährlösung bis auf 1,8 Proz., *Mucor racemosus* bis auf 3,4 Proz. treiben können. Ein weiterer Unterschied zwischen den beiden Pilzen besteht darin, daß Mycelien von *Mucor racemosus* sich bei Sauerstoffabschluß in kugelige, hefeartige Bildungen verwandeln; *Mucor mucedo* behält immer die sproßartige myceliale Form. Auf Grund dieser Ergebnisse können wir annehmen, daß *Mucor mucedo* ein mittelmäßiger, *Mucor racemosus* aber ein tüchtiger Gärungserreger ist. Es ist noch zu erwähnen, daß die ausgedehnten Untersuchungen von Fitz²⁾ (wobei jedoch die Reinheit der Kultur nicht immer einwandfrei war) im allgemeinen dieselben Resultate erbrachten. Später hat Hansen³⁾ Versuche von längerer Dauer unternommen und dabei gefunden, daß *Mucor mucedo* sogar 3 Proz., *Mucor racemosus* aber 7 Proz. Alkohol produzieren könne.

Meine eigenen Untersuchungen wurden auf solche Weise ausgeführt, daß der Gaswechsel der unter entsprechenden Bedingungen gezogenen Pilzkulturen vom Standpunkte der oben besprochenen charakteristischen Merkmale studiert wurde. Zu diesem Zwecke sind 3 Versuchsserien ausgeführt worden. Die erste Serie bezweckte die Untersuchung des Einflusses des Nährsubstrates. Wie es sich aus den speziell angestellten Vorversuchen mit Sicherheit herausstellte, ist das Wachstum der *Mucoraceen* auf geäußtem Brote noch üppiger als auf Zuckersubstrat, dabei findet aber keine Alkoholgärung statt; es wäre daher von Interesse, zu erforschen, wie bei dieser Ernährung ein Zusatz von vergärbarem Zucker auf den Gaswechsel der Pilze einwirken wird. In der zweiten Versuchsserie wurden die Pilzkulturen auf Zuckersubstrat (Bierwürze) bei ganz guter Aëration gezogen; dadurch wurde die Möglichkeit geschaffen, den Einfluß des Sauerstoffes auf den Charakter des Gaswechsels der *Mucoraceen* zu studieren. Zunächst wurde immer die Quantität der ausgeschiedenen CO_2 pro Zeiteinheit und auch $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ bei Sauerstoffzutritt bestimmt; alsdann wurde Luft durch

reinen Stickstoff verdrängt und nun die anaërobe CO_2 -Ausscheidung während einer mehr oder weniger ausgedehnten Periode untersucht; schließlich gelangten die Kulturen wieder in die Luft. Die dritte Versuchsserie enthält Versuche mit den Acetondauerpräparaten; diese Dauerpräparate bieten noch eine Gelegenheit, die beiden physiologischen Typen voneinander zu unterscheiden; dabei greift man vielleicht noch tiefer in die chemische Natur der Betriebsprozesse hinein, als dies bei dem Experimentieren mit lebenden Objekten überhaupt gelingen kann. Der Gaswechsel der Acetondauerpräparate eines typischen Gärungserregers (*Saccharomyces*

1) Pasteur, l. c. p. 126 u. 138.

2) Fitz, Eine Reihe von kurzen Mitteilungen in den Berichten d. deutsch. chem. Gesellsch. 1873—1876. — Siehe auch Brefeld, Landwirtschaftl. Jahrb. Bd. V. 1876. p. 305.

3) Hansen, Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet. Bd. II. 1882. p. 160.

cerevisiae) läßt sich vor allem dadurch kennzeichnen, daß $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ dabei sehr groß ist, noch größer als bei dem Gaswechsel der lebenden Hefe¹⁾; die Ausgiebigkeit der CO_2 -Ausscheidung ist in diesem Falle ziemlich bedeutend. Aus den weiter folgenden Versuchen wird ersichtlich sein, daß die 1 Stunde lang bei 100° dauernde Erwärmung des trockenen Präparates auf die Größe von $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ nicht einwirkt; bei Sauerstoffabschluß produzieren die so getrockneten Präparate ebensoviel CO_2 , wie bei Sauerstoffzutritt. Unter den aëroben Organismen wurde *Aspergillus niger* bezüglich des Gaswechsels seiner Dauerpräparate von mir neuerdings untersucht²⁾. Es ergab sich, daß $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ dabei regelmäßig < 1 ausfällt; nur bei künstlich erschwertem Sauerstoffzutritt gelingt es, $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} > 1$ zu erzielen. Wird nun ein Acetondauerpräparat vor dem Versuche 1 Stunde lang bei 100° getrocknet, so wird ihm danach die Fähigkeit zur anaëroben CO_2 -Produktion vollständig benommen; bei Sauerstoffzutritt wird zwar eine unbedeutende Quantität von CO_2 entwickelt, doch bleibt dabei $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ merkwürdigerweise auch bei erschwertem Sauerstoffzutritt < 1 . Es ist also einleuchtend, daß zwischen den Dauerpräparaten der gärungserregenden Organismen und denjenigen der oxydierenden Organismen ein qualitativer Unterschied besteht. Die Untersuchung der Tätigkeit der Acetondauerpräparate von Mucoraceen wurde von mir auf dieselbe Weise ausgeführt, wie ich es bei der Hefe und bei *Aspergillus* vollbrachte.

Schließlich soll die gasometrische Methode kurz besprochen werden. Die Pilzkulturen wurden immer in konischen, ca. 250 ccm fassenden Glaskolben mit oben erweitertem Halse gezogen. Ein solcher Kolben wurde mit entsprechendem Nährsubstrat beschickt, mit einem Wattepfropfen verschlossen, sterilisiert und mit Sporen der betreffenden Mucor-Art geimpft; nun wurde der Wattepfropfen durch einen zweimal durchbohrten Kautschukstöpsel mit je einem Anleitungs- und Ableitungsrohr ersetzt: beide Röhren wurden zweimal unter rechtem Winkel gebogen; das Ableitungsrohr wurde in Quecksilber getaucht und diente als Manometer, das Anleitungsrohr wurde mit einem Stück dickwandigen Gummischlauch versetzt, an welchem sich ein Quetschhahn befand; beide Röhren wurden mit Watte verschlossen und samt dem Stöpsel jedesmal vor dem Versuche 15 Minuten lang bei 120° sterilisiert. Die Methode der Impfung bestand darin, daß die Sporen der betreffenden Mucor-Art (eine Platinöse voll) in 25 ccm sterilisierten

1) Telesnin, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 205. — Warschawsky, ebenda. p. 400.

2) Kostytschew, Berichte d. deutsch. botan. Gesellsch. Bd. XXII. 1904. p. 207.

Wassers verteilt und davon einige Tropfen in den Versuchskolben mittelst einer sterilisierten Pipette abpipettiert wurden; somit war die Entwicklung einer gleichmäßigen Pilzdecke selbst auf festem Substrat ermöglicht. Die gesamten Operationen der Impfung und des Wechsels des Verschlusses wurden unter Beobachtung vollständiger Sterilität in einem Hansenschen Glaskasten vollzogen; alle weiter unten beschriebenen Versuche sind ausnahmslos mit reinen Kulturen ausgeführt worden. Die Kulturen entwickelten sich in Dunkelheit und im konstanten Luftstrom, welcher mittelst eines Wasseraspirators erzeugt wurde; die Durchlüftung wurde auch während der Nachtstunden nicht unterbrochen. Um eine Untersuchung des Gaswechsels an der Luft auszuführen, wurde der Kolben für eine gewünschte Periode luftdicht geschlossen, indem das Manometerrohr in Quecksilber eingetaucht, der letzte Schenkel und der Gummischlauch des Anleitungsrohres mit Quecksilber gefüllt, das Quecksilberniveau im Manometerrohr auf eine bestimmte Höhe eingestellt, der Quetschhahn am Gummischlauch zugezogen und die Erweiterung am Halse des Kolbens über dem Stöpsel mit Quecksilber gefüllt wurde; auf diese Weise war die innere Atmosphäre von der äußeren lediglich durch Glas oder Quecksilber getrennt. Wenn anaerobe Lebensbedingungen hergestellt werden sollten, so wurde dies dadurch erreicht, daß man durch den Kolben einen Stickstoffstrom solange leitete, bis die letzten Spuren von Sauerstoff aus der Atmosphäre des Kolbens durch Stickstoff verdrängt waren; für die Herstellung des Stickstoffgases diente ein Gemisch von 1 Mol. KNO_3 , 1 Mol. NH_4Cl und 180 ccm Wasser; vor dem Gebrauche wurde das Gas mit Schwefelsäure und mit Natronkalk gereinigt.

Das Entnehmen der Gasportionen geschah mittelst einer von mir unbedeutend modifizierten Gaspipette von Bonnier u. Mangin; die Gasanalysen wurden in einem Apparat von Polowzow¹⁾ mit der Modifikation von A. Richter ausgeführt; dieser Apparat gestattet, wenn er zuverlässig kalibriert ist, die Genauigkeit der Analyse bei der Bestimmung von CO_2 bis auf 0,1 Proz. zu treiben (für den Sauerstoff ist der Fehler noch geringer). Das Gesamt-

volumen des Gases im Kolben wurde nach der Formel
$$V = \frac{a P}{p_1 - p_2}$$

bestimmt; in dieser Formel bezeichnet a das Volumen einer von dem Kolben entnommenen Gasportion, welche bei dem Gasdruck P gemessen wurde, p_1 den Gasdruck im Kolben vor der Entnahme der Gasportion, p_2 den Gasdruck im Kolben nach der Entnahme der Gasportion. Die Gasportion a wurde immer in demselben kalibrierten Endiometerrohr mit einer Genauigkeit von 0,1 ccm gemessen. Die absoluten Mengen der CO_2 wurden immer auf 0° und 760 mm reduziert; in den Versuchsprotokollen sind jedoch genaue Angaben über Temperatur und Gasdruck nicht angegeben, um eine übermäßige Anhäufung der Zahlen geringer Bedeutung zu vermeiden.

1) Polowzow, Untersuchungen über die Pflanzenatmung. 1901. [Russisch.]

Erste Versuchsreihe.

Grundsubstrat: Weißbrot, welches zuvor getrocknet und fein zerkleinert wurde. Zu je einem Versuche wurden immer zwei Kulturkolben angewandt; jeder Kolben enthielt 50 ccm Brotpulver; zu diesem wurde in den einen Kolben Wasser, in den anderen aber Traubenzuckerlösung in solcher Menge zugegossen, daß sich ein gleichmäßiger zähflüssiger Brei bildete; nun wurde bei 120° sterilisiert und geimpft. Das Wachstum der Pilze war immer sehr üppig auf Brot mit Wasser, etwas schwächer auf Brot mit Zuckerlösung; die Pilzdecken waren oberflächlich und ließen sich leicht vom Substrat ablösen; die innere Masse vom Brot blieb intakt. Zu sämtlichen Versuchen wurde ein und dasselbe Brotpulverpräparat gebraucht.

Versuch I.

Mucor stolonifer. Zwei 4-tägige Kulturen. A auf Brot mit Wasser, B auf Brot mit 5-proz. Traubenzuckerlösung. Die Kulturen entwickelten sich im konstanten Luftstrom.

I. Luftperiode 1½, Stunden.

Gasanalysen:

A.	CO ₂	2,79 Proz.	B.	CO ₂	3,91 Proz.
	O ₂	17,73 "		O ₂	16,31 "
	inerte Gase	79,48 "		inerte Gase	79,78 "
		<hr/>			<hr/>
	CO ₂	0,89		CO ₂	0,84
	O ₂			O ₂	

25 Stunden im Luftstrom.

II. Luftperiode 1½, Stunden.

Gasanalysen:

A.	CO ₂	2,44 Proz.	B.	CO ₂	3,19 Proz.
	O ₂	17,98 "		O ₂	17,03 "
	in. G.	79,58 "		in. G.	79,78 "
		<hr/>			<hr/>
	CO ₂	0,84		CO ₂	0,81
	O ₂			O ₂	

Versuch II.

Mucor stolonifer. Genaue Wiederholung von Versuch I.

I. Luftperiode 1½, Stunden.

Gasanalysen:

A.	CO ₂	2,34 Proz.	B.	CO ₂	3,56 Proz.
	O ₂	18,16 "		O ₂	16,47 "
	in. G.	79,50 "		in. G.	79,97 "
		<hr/>			<hr/>
	CO ₂	0,86		CO ₂	0,77
	O ₂			O ₂	

27 Stunden im Luftstrom.

II. Luftperiode 1½, Stunden.

A.	CO ₂	2,10 Proz.	B.	CO ₂	3,08 Proz.
	O ₂	18,33 "		O ₂	16,90 "
	in. G.	79,57 "		in. G.	80,02 "
		<hr/>			<hr/>
	CO ₂	0,82		CO ₂	0,75
	O ₂			O ₂	

Aus diesen Versuchen ist ersichtlich, daß ein Zusatz von Zucker keinen Einfluß auf den Charakter des Gaswechsels von *Mucor stolonifer* ausübt. $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ bleibt < 1; es treten also keine Gärungs-

vorgänge hervor. Ganz anders verhält sich bei denselben Bedingungen der Pilz *Mucor mucedo*, wie man es aus den weiter folgenden Versuchen schließen kann.

Versuch III.

Mucor mucedo. Zwei 4-tägige Kulturen: A auf Brot mit Wasser, B mit 5-proz. Traubenzuckerlösung. Die Kulturen entwickelten sich im konstanten Luftstrom.

Luftperiode 6 Stunden.

Gasanalysen:

A.	CO ₂	6,81 Proz.	B.	CO ₂	9,29 Proz.
	O ₂	12,57 "		O ₂	13,90 "
	in. G.	80,62 "		in. G.	76,81 "
	CO ₂			CO ₂	
	O ₂	0,79		O ₂	1,48

Versuch IV.

Genaue Wiederholung von Versuch III.

Luftperiode 5 Stunden.

Gasanalysen:

A.	CO ₂	5,68 Proz.	B.	CO ₂	7,93 Proz.
	O ₂	13,99 "		O ₂	14,58 "
	in. G.	80,33 "		in. G.	77,49 "
	CO ₂			CO ₂	
	O ₂	0,80		O ₂	1,38

Versuch V.

Mucor mucedo. Zwei 5-tägige Kulturen: A auf Brot mit Wasser, B auf Brot mit 20-proz. Traubenzuckerlösung. Die Kulturen entwickelten sich im konstanten Luftstrom.

A. I. Luftperiode 6 Stunden.

Gasanalyse:

	CO ₂	9,33 Proz.
	O ₂	9,65 "
	in. G.	81,02 "
	CO ₂	
	O ₂	0,80

25 Stunden im Luftstrom

II. Luftperiode 2 Stunden.

Gasanalyse:

	CO ₂	3,18 Proz.
	O ₂	16,94 "
	in. G.	79,88 "
	CO ₂	
	O ₂	0,78

B. I. Luftperiode 1½ Stunden.

Gasanalyse:

	CO ₂	4,83 Proz.
	O ₂	17,28 "
	in. G.	77,89 "
	CO ₂	
	O ₂	1,52

20 Stunden im Luftstrom.

II. Luftperiode 1 Stunde.

Gasanalyse:

	CO ₂	4,05 Proz.
	O ₂	17,51 "
	in. G.	78,44 "
	CO ₂	
	O ₂	1,31

21 Stunden im Luftstrom.

III. Luftperiode 40 Minuten.

Gasanalyse:

	CO ₂	2,93 Proz.
	O ₂	18,54 "
	in. G.	78,93 "
	CO ₂	
	O ₂	1,28

Versuch VI.

Wiederholung von Versuch V.

A. I. Luftperiode 6 Stunden. B. I. Luftperiode 1½, Stunden.

Gasanalyse:				Gasanalyse:			
CO ₂	10,24	Proz.		CO ₂	5,59	Proz.	
O ₂	8,15	"		O ₂	15,97	"	
in. G.	81,61	"		in. G.	78,44	"	
<hr/>				<hr/>			
CO ₂	0,77			CO ₂	1,21		
O ₂				O ₂			
25 Stunden im Luftstrome.				20 Stunden im Luftstrome.			
II. Luftperiode 2 Stunden.				II. Luftperiode 1 Stunde.			
Gasanalyse:				Gasanalyse:			
CO ₂	3,00	Proz.		CO ₂	4,40	Proz.	
O ₂	16,81	"		O ₂	17,39	"	
in. G.	80,19	"		in. G.	78,21	"	
<hr/>				<hr/>			
CO ₂	0,71			CO ₂	1,40		
O ₂				O ₂			
				20 Stunden im Luftstrome.			
III. Luftperiode 45 Minuten.				Gasanalyse:			
				CO ₂	3,81	Proz.	
				O ₂	17,87	"	
				in. G.	78,32	"	
				<hr/>			
				CO ₂	1,41		
				O ₂			

Aus diesen Versuchen ersieht man, daß der Gaswechsel von *Mucor mucedo* bei Zuckermangel ein anderer ist als bei Zuckerzusatz, trotzdem daß die Aëration in beiden Fällen eine ganz gute war. Es ist einleuchtend, daß eine schwache Alkoholgärung bloß durch Gegenwart von Zucker hervorgerufen wird. Dieselbe Erscheinung tritt noch deutlicher bei *Mucor racemosus* zum Vorschein (siehe folgende Versuche).

Versuch VII.

Mucor racemosus. Zwei 3-tägige Kulturen: A. auf Brot mit Wasser, B. auf Brot mit 5-proz. Traubenzuckerlösung. Die Kulturen entwickelten sich im konstanten Luftstrome.

I. Luftperiode 2½, Stunden.

Gasanalysen:				Gasanalysen:			
A. CO ₂	3,61	Proz.		B. CO ₂	6,98	Proz.	
O ₂	17,05	"		O ₂	16,04	"	
in. G.	79,34	"		in. G.	76,98	"	
<hr/>				<hr/>			
CO ₂	0,95			CO ₂	1,67		
O ₂				O ₂			

30 Stunden im Luftstrome.

II. Luftperiode 50 Minuten.

Gasanalysen:				Gasanalysen:			
A. CO ₂	1,31	Proz.		B. CO ₂	2,92	Proz.	
O ₂	19,37	"		O ₂	19,13	"	
in. G.	79,32	"		in. G.	77,95	"	
<hr/>				<hr/>			
CO ₂	0,90			CO ₂	2,18		
O ₂				O ₂			

Versuch VIII.

Wiederholung der vorhergehenden.

A. I. Luftperiode 2 Stunden. B. I. Luftperiode 3 Stunden.

Gasanalyse:		Gasanalyse:	
CO ₂	6,75 Proz.	CO ₂	8,84 Proz.
O ₂	14,44 "	O ₂	15,21 "
in. G.	78,81 "	in. G.	75,95 "
<hr/>		<hr/>	
CO ₂	1,05	CO ₂	1,86
O ₂		O ₂	

30 Stunden im Luftstrome.

II. Luftperiode 1 Stunde.

Gasanalysen:		Gasanalysen:	
CO ₂	3,81 Proz.	CO ₂	3,75 Proz.
O ₂	17,07 "	O ₂	18,64 "
in. G.	79,12 "	in. G.	77,61 "
<hr/>		<hr/>	
CO ₂	1,03	CO ₂	2,16
O ₂		O ₂	

Aus den bereits beschriebenen Versuchen ersieht man schon, daß *Mucor stolonifer* sich von den beiden übrigen Arten in physiologischer Hinsicht prinzipiell unterscheidet. Obschon *Mucor stolonifer* bei Zuckerernährung und bei Sauerstoffabschluß bekanntlich ziemlich viel CO₂ ausscheidet, muß dennoch dieser Prozeß macht als echte Alkoholgärung, sondern als eine ausgiebige intramolekulare Atmung bezeichnet werden, denn bei Sauerstoffzutritt, wenn sonstige gute Nahrung dem Pilze zur Verfügung steht, ist vom gährungsartigen Betriebswechsel gar nichts zu sehen; dies steht aber mit unseren Vorstellungen über die Zymase und über die Natur der Alkoholgärung nicht im Einklang¹⁾. Bei den gährungsfähigen *Mucor mucedo* und *Mucor racemosus* tritt im Gegenteil die Tätigkeit der Zymase auch bei vortrefflicher Aëration und bei guter sonstiger Nahrung zum Vorschein, obschon die oxydierenden Vorgänge bei der ausgewählten Ernährungsart im Vergleich mit der Gärungstätigkeit sehr stark ausgeprägt sind und die Arbeit der Zymase für das Leben vollständig belanglos ist; vielmehr wird die Entwicklung der Pilze durch Zuckerzusatz verzögert.

Zweite Versuchsserie.

Nährsubstrat: Bierwürze²⁾. Um eine gute Aëration zu erzielen, habe ich die nach meiner Meinung einzig einwandsfreie Methode von Iwanowsky³⁾ nachgeahmt; nur Tonplatte wurde durch feinen, chemisch reinen Quarzsand ersetzt; jeder Kolben wurde mit 50 ccm Bierwürze und soviel Sand beschickt, daß die ganze Flüssigkeit vom Sand eingesogen wurde. Der nasse Sand

1) Eine ausführliche Diskussion über diesen Gegenstand findet man bei A. Richter. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 787.)

2) Die Bierwürze wurde mir für alle meine Versuche von der Brauerei „Bavaria“ in freundlichster Weise zur Verfügung gestellt; es ist mir eine angenehme Pflicht, der Verwaltung der Brauerei meinen besten Dank auszusprechen.

3) Iwanowsky, l. c.

wurde mit Fließpapier bedeckt, der Kolben mit Watte verschlossen, sterilisiert und geimpft, wonach der Wattepropfen durch den Kautschukstöpsel mit Glasröhren ersetzt und die Verbindung mit dem Aspirator hergestellt wurde. Die Kulturen entwickelten sich auf dem Papier in Dunkelheit und im konstanten Luftstrom; das Wachstum der Pilze war vollständig aërob; nie waren Pilzzellen im Sand unter dem Papier zu finden. In den Versuchsprotokollen bezeichnet E die Quantität der ausgeschiedenen CO_2 pro Zeiteinheit (10 Std.).

Versuch IX.

Eine 3-tägige Kultur von *Mucor stolonifer*. Gesamtvolumen: 168 ccm. Temp. 17–18°.

I. Luftperiode 2 Stunden.

Gasanalyse: CO_2	6,34	Proz.
O_2	14,11	"
in. G.	79,55	"
CO_2	0,95	
O_2		
CO_2	9,5 ccm.	E 47,6
1 Stunde im Stickstoffstrom.		

II. Stickstoffperiode.

a) 2 $\frac{1}{4}$ Stunden.	b) Weitere 18 Stunden.
Gasanalyse: CO_2	Gasanalyse: CO_2
N_2	N_2
CO_2	CO_2
E 23,8	E 8,1
c) Weitere 25 Stunden.	
Gasanalyse: CO_2	Gasanalyse: CO_2
N_2	N_2
CO_2	CO_2
E 7,7	
1 $\frac{1}{4}$ Stunden im Stickstoffstrom.	

III. Stickstoffperiode.

a) 22 Stunden.	b) Weitere 24 Stunden.
Gasanalyse: CO_2	Gasanalyse: CO_2
N_2	N_2
CO_2	CO_2
E 9,7	E 5,0
40 Minuten im Luftstrom.	

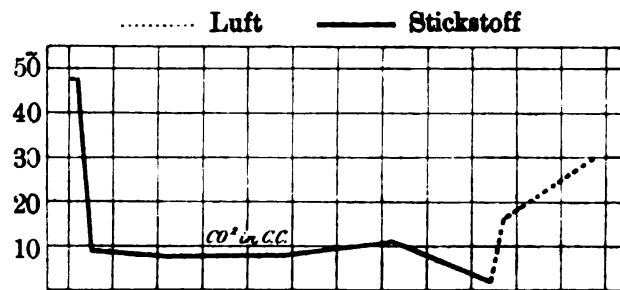
IV. Luftperiode 1 $\frac{1}{4}$ Stunden.

Gasanalyse: CO_2	1,25	Proz.
O_2	20,39	"
in. G.	78,36	"
CO_2	6,58	
O_2		
CO_2	2,3 ccm.	E 15,3
22 Stunden im Luftstrom.		

V. Luftperiode 2 $\frac{1}{4}$ Stunden.

Gasanalyse: CO_2	4,53	Proz.
O_2	16,10	"
in. G.	79,37	"
CO_2	0,96	
O_2		
CO_2	6,8 ccm.	E 30,2

Der Gang der Versuche ist durch die Kurve I dargestellt worden.

Kurve I. *Mucor stolonifer*.

Versuch X.

Eine 3-tägige Kultur von *Mucor stolonifer*. Gesamtgasvolumen 183 ccm.
Temp. 17–18°.

I. Luftperiode 2 Stunden.

Gasanalyse:	CO ₂	5,25 Proz.
	O ₂	15,40 „
	in. G.	79,35 „
	CO ₂	0,97
	O ₂	

CO₂ 8,6 ccm E 42,8

1 Stunde im Stickstoffstrom.

II. Stickstoffperiode.

a) 2 1/4 Stunden.

Gasanalyse:	CO ₂	3,95 Proz.
	N ₂	96,05 „
	CO ₂	6,7 ccm. E 24,3

b) Weitere 18 Stunden.

Gasanalyse:	CO ₂	16,86 Proz.
	N ₂	83,14 „

CO₂ 28,9–6,7 = 22,2 ccm. E 12,3

c) Weitere 28 Stunden.

Gasanalyse:	CO ₂	36,62 Proz.
	N ₂	63,38 „

CO₂ 67,0–28,9 = 38,1 ccm. E 13,6

2 1/2 Stunden im Stickstoffstrom.

III. Stickstoffperiode.

a) 20 Stunden.

Gasanalyse:	CO ₂	11,61 Proz.
	N ₂	88,39 „
	CO ₂	18,8 ccm. E 9,4

40 Minuten im Luftstrom.

b) Weitere 24 Stunden:

Gasanalyse:	CO ₂	17,83 Proz.
	N ₂	82,17 „

CO₂ 30,3–11,8 = 18,5 ccm. E 4,8

IV. Luftperiode 1 1/4 Stunden.

Gasanalyse:	CO ₂	1,53 Proz.
	O ₂	20,25 „
	in. G.	78,22 „
	CO ₂	5,27
	O ₂	

CO₂ 2,1 ccm E 13,8

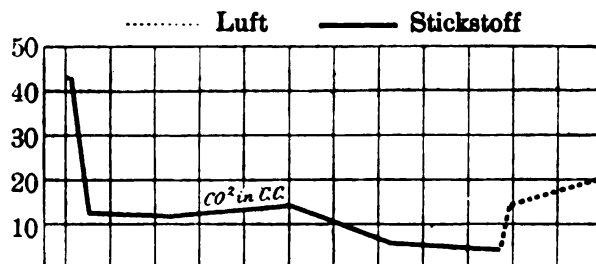
21 Stunden im Luftstrom.

V. Luftperiode 2 1/4 Stunden.

Gasanalyse:	CO ₂	2,62 Proz.
	O ₂	18,03 „
	in. G.	79,45 „
	CO ₂	0,92
	O ₂	

CO₂ 4,3 ccm. E 19,1

Der Gang des Versuches ist durch die Kurve II dargestellt worden.

Kurve II. *Mucor stolonifer*.

Auf diese Weise sehen wir, daß *Mucor stolonifer*, auf Bierwürze bei ausgezeichneter Aëration gezogen, keine Alkoholgärung hervorruft, denn $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ ist < 1 . Bei Sauerstoffabschluß ist die CO_2 -Produktion geringer als bei Sauerstoffzutritt und nimmt mit der Zeit regelmäßig ab. Im allgemeinen hat die Kurve der anaëroben CO_2 -Ausscheidung von *Mucor stolonifer*, wenn wir nur die nicht charakteristische kleine Wölbung in ihrer Mitte ohne Rücksicht lassen, die Form einer ausgedehnten Kurve der intramolekularen Atmung der Aëroben; sie hat nämlich kein Maximum. Gelangt nun der Pilz wieder in die Luft, so nimmt die CO_2 -Produktion wieder zu, doch erreicht sie selbst nach 24 Stunden nur etwa die Hälfte der ursprünglichen Größe. Merkwürdig ist der Umstand, daß $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ nach der Stickstoffperiode für eine kurze Zeit gärungsartigen Charakter annimmt und ist bedeutend > 1 ; danach ist der Schluß zu ziehen, daß man bei derartigen Versuchen mit großer Vorsicht verfahren und vor allem eine genügende Aëration besorgen muß. Es ist wohl möglich, daß schon Mangel an Durchlüftung und die dadurch hervorgerufene dauernde Anhäufung der CO_2 über der Pilzdecke auf die Größe von $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ einwirken kann. Jedenfalls zeigt die Größe von $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ bei guter Aëration, ebenso wie die Kurve der anaëroben CO_2 -Ausscheidung, daß bei *Mucor stolonifer* keine typische Alkoholgärung, sondern intramolekulare Atmung stattfindet. Nach dem oben erörterten ist einleuchtend, daß diese beiden Prozesse nicht ganz identisch sind, obschon der Unterschied zwischen ihnen noch nicht näher präzisiert werden kann.

Versuch XI.

Eine 3-tägige Kultur von *Mucor mucedo*. Gesamtgasvolumen 172 ccm. Temp. 17,5—19°.

I. Luftperiode 3 Stunden.			
Gasanalyse:	CO_2	5,39	Proz.
	O_2	16,38	„
	in. G.	78,23	„
	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$	1,29	
	CO_2	8,4 ccm.	E 28,0
	2 Stunden im Stickstoffstrome.		

II. Stickstoffperiode.			
a) 4 Stunden.	b) Weitere 18 Stunden.		
Gasanalyse:	CO_2	2,27	Proz.
	N_2	97,73	„
	CO_2	3,4 ccm.	E 8,6
c) Weitere 19 Stunden.	Gasanalyse:	CO_2	11,22
		N_2	88,78
		CO_2	18,6—10,5 = 8,1 ccm.
			E 4,2
		1 Stunde im Stickstoffstrome.	

III. Stickstoffperiode 23 Stunden.

Gasanalyse: CO_2 14,01 Proz.
 N_2 85,99 „

CO_2 23,6 ccm. E 10,3
 6 Stunden im Stickstoffstrom.

V. Luftperiode $2\frac{1}{4}$ Stunde.

Gasanalyse: CO_2 3,19 Proz.
 O_2 19,24 „
 in G. 77,57 „

$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ 2,82

CO_2 4,9 ccm. E 21,9
 24 Stunden im Luftstrom.

IV. Stickstoffperiode 15 Stunden.

Gasanalyse: CO_2 9,81 Proz.
 N_2 90,19 „

CO_2 15 ccm. E 10,1
 40 Minuten im Luftstrom.

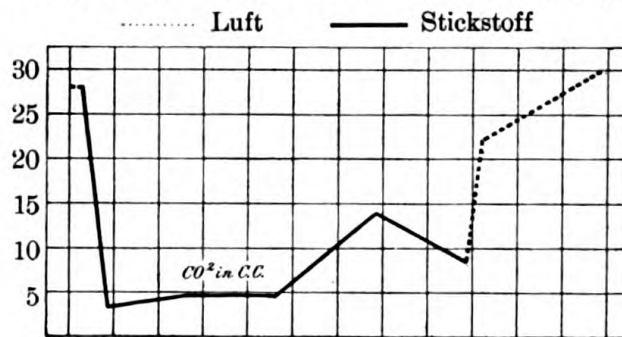
VI. Luftperiode $2\frac{1}{4}$ Stunde.

Gasanalyse: CO_2 4,40 Proz.
 O_2 17,11 „
 in G. 78,49 „

$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ 1,26

CO_2 6,7 ccm. E 29,9

Eine sorgfältige mikroskopische Untersuchung der Kulturen ergab, daß keine kugeligen, hefeartigen Bildungen vorhanden sind. Der Gang des Versuches ist durch die Kurve III dargestellt worden.

Kurve III. *Mucor mucedo*.

Versuch XII.

Eine 3-tägige Kultur von *Mucor mucedo*. Gesamtgasvolumen 178 ccm.
 Temp. 17–18,5°.

I. Luftperiode 4 Stunden.

Gasanalyse: CO_2 6,63 Proz.
 O_2 15,40 „
 in G. 77,97 „

$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ 1,31

CO_2 11,0 ccm. E 27,4
 $1\frac{1}{2}$ Stunden im Stickstoffstrom.

II. Stickstoffperiode:

a) 3 Stunden

Gasanalyse: CO_2 2,19 Proz.
 N_2 97,81 „

CO_2 3,4 ccm. E 11,5

c) Weitere $18\frac{1}{2}$ Stunden

Gasanalyse: CO_2 15,85 Proz.
 N_2 84,15 „

CO_2 27,3–13,2 = 14,1 ccm. E 7,6
 $1\frac{1}{2}$ Stunden im Stickstoffstrom.

III. Stickstoffperiode 22 Stunden.

Gasanalyse: CO_2 14,05 Proz.
 N_2 85,95 „

CO_2 23,7 ccm. E 10,8
 6 Stunden im Stickstoffstrom.

b) Weitere 19 Stunden

Gasanalyse: CO_2 8,27 Proz.
 N_2 91,73 „

CO_2 13,2–3,4 = 9,8 ccm. E 5,2

IV. Stickstoffperiode $19\frac{1}{2}$ Stunden.

Gasanalyse: CO_2 12,97 Proz.
 N_2 87,03 „

CO_2 22,8 ccm. E 11,7
 40 Minuten im Luftstrom.

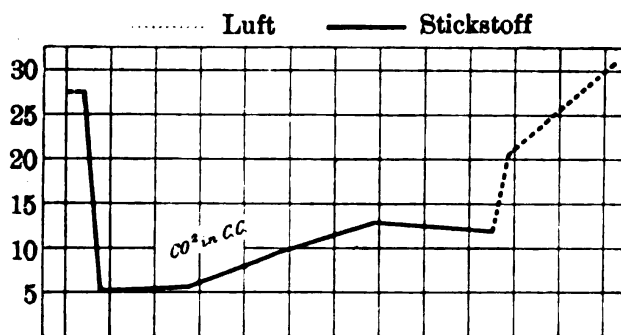
V. Luftperiode 3 Stunden.
Gasanalyse: CO₂ 3,75 Proz.
O₂ 18,83 „
in. G. 77,42 „

$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 2,50$
CO₂ 6,1 ccm. E 20,3
22 1/4 Stunden im Luftstrome.

VI. Luftperiode 2 1/4 Stunden.
Gasanalyse: CO₂ 4,35 Proz.
O₂ 16,82 „
in. G. 78,83 „

$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 1,18$
CO₂ 6,9 ccm. E 30,8

Mikroskopische Untersuchung: Dasselbe Resultat wie im Versuch XI. Der Gang des Versuches ist durch die Kurve IV dargestellt worden.



Kurve IV. Mucor mucedo.

Versuch XIII.

Eine 3-tägige Kultur von Mucor mucedo. Gesamtvolumen 163 ccm.
Temp. 17,5—19°.

I. Luftperiode 4 Stunden.
Gasanalyse: CO₂ 6,60 Proz.
O₂ 15,71 „
in. G. 77,69 „

$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 1,41$
CO₂ 9,8 ccm. E 24,5
1 1/2 Stunden im Stickstoffstrome.

II. Stickstoffperiode:

a) 4 Stunden
Gasanalyse: CO₂ 2,88 Proz.
N₂ 97,12 „
CO₂ 4,0 ccm. E 10,0

b) Weitere 19 Stunden
Gasanalyse: CO₂ 7,96 Proz.
N₂ 92,04 „
CO₂ 10,9—4,0 = 6,9 ccm. E 3,6

c) Weitere 17 1/4 Stunden
Gasanalyse: CO₂ 12,04 Proz.
N₂ 87,96 „
CO₂ 17,0—10,9 = 6,1 ccm E 3,5
40 Minuten im Luftstrome.

III. Luftperiode 3 Stunden.
Gasanalyse: CO₂ 2,75 Proz.
O₂ 19,09 „
in. G. 78,16 „

$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 1,90$
CO₂ 4,1 ccm. E 13,6
20 Stunden im Luftstrome.

IV. Luftperiode 4 Stunden.
Gasanalyse: CO₂ 3,60 Proz.
O₂ 18,07 „
in. G. 78,33 „

$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 1,44$
CO₂ 5,4 ccm. E 13,5

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber die in der normalen Milch vorkommenden Anaëroben und ihre Beziehungen zum Käsereifungsprozesse.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Rom und aus dem städt. bakteriolog. Laboratorium zu Padua.]

Von Dr. med. **Antonio Rodella.**

(5. Mitteilung.)

Dem Versprechen, das wir in No. 24/25, Bd. XI. dieser Zeitschrift gegeben haben, nachkommend, veröffentlichen wir hiermit die Ergebnisse unserer Untersuchungen über die Anaëroben der Milch, sei es als solcher oder in geronnenem Zustande infolge der Zugabe von Lab, und unternehmen es dabei, die von uns gewonnenen Resultate mit dem Reifungsprozesse der Käse in Beziehung zu bringen.

Es dürfte indes nicht unangebracht sein, in Kürze durchzugehen, was man von der Bakterienflora der Milch weiß.

Während man bekanntlich früher der Ansicht huldigte, die Milch im gesunden Euter sei steril und eine Infektion finde nur statt, wenn sie mit der Außenwelt in Berührung trete, ist man infolge der im Jahre 1898 von A. R. Ward eingeleiteten und von anderen Forschern weitergeführten Studien zu der Kenntnis gelangt, daß das Euter jederzeit eine gewisse Anzahl von Bakterien beherbergt.

A. R. Ward fand bei seinen Untersuchungen 7 Arten von Mikroorganismen, und zwar 6 Mikrokokken, von denen 5 die Gelatine verflüssigten, während eine dieselbe nicht verflüssigte.

Unter den 5 die Gelatine verflüssigenden Arten waren jedoch 2 wahrscheinlich identisch. Die 7. Bakterienart war durch einen verflüssigenden Bacillus repräsentiert, der jedoch nur in 2 Eutern gefunden wurde. Was die Zahl der Kolonien anlangt, die sich auf den Platten entwickelten, so variierte sie sehr, von einigen wenigen bis über hundert.

Unter den Fortsetzern der Wardschen Untersuchungen muß besonders Freudenreich hervorgehoben werden, der drei Schriften hierüber veröffentlicht hat, worin auch die spärliche einschlägige Literatur Aufzählung fand.

Die Frage, ob die Infektion des Euters auf hämatogenem Wege vor sich geht oder infolge Einwanderung durch den Zitzenkanal oder aber auf beiden Wegen, ist noch ungeklärt. Dieselbe hat indes für uns eine ganz nebensächliche Bedeutung.

In jedem Falle haben wir damit zu rechnen, daß die Milch bereits im Euter mit Bakterien infiziert ist. Dies ist von praktischer Bedeutung insofern, als alle zur Erlangung keimfreier Milch vorgeschlagenen Methoden des rigoros aseptischen Melkens kein steriles Produkt liefern. Vom hygienischen Standpunkte aus scheinen die bis jetzt in der Milch des Euters gefundenen Bak-

terien sehr harmloser Natur zu sein. Auch vom technischen Standpunkte aus dürfte ihr Wert gering oder gleich Null sein. Haben doch zahlreiche exakte Versuche Freudenreichs dargetan, daß Käse, zu dessen Bereitung aseptisch gemolkene Milch, also Milch, die keine anderen Keime als die des Euters enthielt, verwendet wurde, entweder gar nicht oder nur schlecht zur Reife gelangte.

„Nach diesen Versuchen zu schließen“, schreibt Freudenreich, „scheint also bloß der von dem einen von uns früher aus frischen Emmentalerkäsen isolierte *Micrococcus* befähigt zu sein, eine Rolle bei der Reifung zu spielen, die wahrscheinlich darin besteht, daß er durch Lösung des Kaseïns den Boden für die nachher auftretenden und die Hauptrolle spielenden Milchsäurefermente vorbereitet. Eine Ausnahme könnte nur Typus IV Varietät α (ebenfalls eine *Coccus*-Art) bilden, da dieser Mikroorganismus doch nicht ganz ohne Wirkung auf den Geschmack der damit geimpften Käse war und wir halten es daher für angezeigt, mit demselben weitere vergleichende Versuche anzustellen. Indessen müssen wir bemerken, daß derselbe mit dem aus Käse isolierten *Coccus* jedenfalls nicht identisch ist, wie das Studium seiner morphologischen und kulturellen Charaktere zeigt. Außerdem haben wir ihn bisher nur bei einer Kuh angetroffen und wir können uns daher der Vermutung von Dr. Gorini, daß das Euter sozusagen eine Quelle der für die Reifung des Käses nötigen Bakterien bilde, in keiner Weise anschließen. Wir sehen auch etwas ganz Ähnliches bezüglich der so wichtigen Milchsäurefermente; auch sie kommen in frisch gemolkener Milch nicht vor und erst aus der Umgebung scheinen sie in dieselbe bei oder auch nach dem Melken zu gelangen und das Gleiche wird wohl der Fall sein mit dem erwähnten verflüssigenden *Micrococcus* aus Käse, dem, wie uns scheint, eine gewisse Rolle bei der Reifung nicht abzusprechen ist“.

Welches sind nun die häufigsten Keime, die sich in der Milch einnisten und sozusagen die konstante Flora dieses Nahrungsmittels, so wie es sich im Handel befindet, bilden?

Auf Grund in reichstem Maße angestellter Untersuchungen lassen sich nach Flügge die Keime in der Milch in 3 Gruppen sondern:

- 1) die aëroben Milchsäurebacillen, die das spontane Sauerwerden der Milch hervorrufen;
- 2) die anaëroben Buttersäurebacillen, deren Sporen nach Flügge durch 1-stündiges Sieden getötet werden;
- 3) die peptonisierenden aëroben Bacillen mit Sporen, die über 100° aushalten. Diese haben vom hygienischen Standpunkte aus große Bedeutung sowohl wegen der bedeutenden Widerstandskraft ihrer Sporen als auch wegen der — soweit der makroskopische Augenschein in Betracht kommt — geringfügigen Veränderung, die sie an der Milch ausüben. Es kann dann vorkommen, daß derartige Milch Kindern als gesunde Milch gereicht wird und so zu bedenklichen Erscheinungen der Darmvergiftung führt.

Aber welches sind die Bacillen der Buttersäuregruppe, die nach Flügge bei 1-stündigem Sieden zu Grunde gehen?

Eine vorsichtige Entgegnung wäre die, daß man sich die Beantwortung dieser Frage bis dahin vorbehalten müsse, wo die Kenntnisse der Bakteriologen in diesem Punkte weniger mangelhaft sein werden.

Da wir uns jedoch hier ausschließlich mit den Anaëroben der Milch beschäftigen wollen, so wird unsere weitere Darlegung an Klarheit gewinnen, wenn wir zunächst ein wenig auf die geschichtliche Seite der Frage eingehen.

Es war im Jahre 1892, als Botkin gelegentlich seiner systematischen Untersuchungen der in Berlin und Breslau auf den Markt gebrachten Milch mittels des allbekannten, nach ihm bezeichneten Verfahrens ein Anaërobion fand, welches Buttersäure in großer Menge zu bilden im stande war und das mit dem Namen Milchsäurebacillus von Botkin belegt wurde. Derselbe zeigte sich auf festen Böden (Agar und Gelatine mit $1\frac{1}{2}$ Proz. Traubenzucker) als ein 1—3 μ langes und etwa 0,5 μ breites Stäbchen. In flüssigen Medien war er bedeutend dünner und erreichte sogar eine Länge von über 10 μ . Der Bacillus von Botkin war beweglich, sein kulturelles Aussehen wechselte noch mehr als sein mikroskopisches, eine Eigenschaft übrigens, die allen Anaëroben gemein ist. Der Bacillus von Botkin erzeugte Butylalkohol, brachte die Milchsäure nicht zur Gärung und entwickelte zur Periode der Versporung eine granulöse Ablagerung.

Im Jahre 1894 griff Flüggé mit seiner meisterhaften Arbeit: „Ueber die Aufgaben und Leistungen der Milchsterilisierung etc.“ die Forschung über die Milchanaëroben vom hygienischen Standpunkte aus auf. Es gelang ihm, außer dem Botkinschen Bacillus 3 weitere Anaërobenarten zu isolieren, die er mit den römischen Ziffern II, III, IV bezeichnete.

Ueber den Botkinschen Bacillus drückt sich Flüggé folgendermaßen aus: „Er findet sich in jeder Milch, sofern davon eine ziemlich große Menge zur Untersuchung gelangt. Im Hochsommer wie im Herbst findet er sich in den meisten Milchproben, auch wenn nur ganz geringe Quantitäten untersucht werden, während man in den übrigen Jahreszeiten auf Milchmengen von $\frac{1}{2}$, 1 und mehr nur eine Spore rechnen kann“.

Den Bacillus No. II fand Flüggé in 20 Proz. der von ihm zu verschiedenen Jahreszeiten untersuchten Proben von verschiedener Herkunft.

Auch der Bacillus No. IV fand sich häufig in der Milch.

Das einfachste Verfahren zum Nachweis von Bacillus II und IV besteht darin, daß man die Milch $1\frac{1}{2}$ Stunden sieden läßt und sie dann in einer Temperatur von 35° hält. Der Buttersäurebacillus von Botkin hält ein so langes Kochen nicht aus; wenn die Milch noch gärt, so liegt die Ursache hiervon nach Flüggé in Bacillus No. II oder IV. Letzterer lasse sich schon nach dem 2. Tage an dem ekelhaften Geruche, den er verbreite, erkennen. Bacillus No. III wurde von Flüggé nicht mehr als zweimal gefunden.

Die wichtigsten Veröffentlichungen auf unserem Gebiete nach

dem meisterhaften Werk von Flügge sind jene von Schattenfroh und Grassberger. Diese zwei Autoren beschäftigten sich zwar nicht speziell mit der Anaërobenflora der Milch, hatten aber bei ihren Untersuchungen Gelegenheit, sich bei Anaërobenarten aufzuhalten, die sich in ihr am leichtesten und häufigsten antreffen lassen.

Schattenfroh und Grassberger hatten sich das Studium der Buttersäuregärung zum Ziele gesetzt. Mit Rücksicht darauf, daß die diesbezüglichen Kenntnisse, trotzdem so viel darüber geschrieben worden war, zum Teil sich als falsch erwiesen hatten, nahmen sie das Studium buchstäblich von Anfang an auf, kontrollierten mit Unvoreingenommenheit die bereits gewonnenen Resultate anderer Forscher, wie Botkin, Flügge, Gruber, Beijerinck etc. und entdeckten so überaus interessante Tatsachen. Auf die Abhandlungen von Schattenfroh und Grassberger zurückzukommen werden wir nächstens Gelegenheit haben in einer Schrift über die physiologische Bedeutung der Anaëroben im menschlichen Verdauungsprozesse. Hier können sie nur in Betracht kommen soweit sie mit dem Gegenstand in Beziehung stehen und uns mehr oder minder sichere Handhaben liefern, um die kurz vorher gestellte Frage: Welches sind die Anaëroben der Buttersäure, die sich in der Milch befinden? beantworten zu können.

Schattenfroh und Grassberger wollen gefunden haben, daß der von ihnen mit dem Namen unbeweglicher Buttersäurebacillus bezeichnete Mikroorganismus in etwa 80 Proz. der untersuchten Proben sich nachweisen ließ.

Ueber die Häufigkeit des beweglichen Buttersäurebacillus geben die zwei Autoren keinen Prozentsatz an; sie berichten nur, daß er ausnahmsweise auch in der Marktmilch gefunden wurde. Auch die übrigen, meistens pathogenen Varietäten der Buttersäuregruppe, wurden von einigen Autoren in der Marktmilch selten angetroffen. Von der nichtpathogenen Art, die für unsere Untersuchungen das allergrößte Interesse hätte, nämlich vom *Bacillus putrificus* Bienstock, haben wir nicht die geringste Quantitätsnotiz und können aus den vorliegenden Untersuchungen nicht einmal abnehmen, ob sie mit Sicherheit in der Milch entdeckt werden kann.

Welche Technik verfolgen nun bis heute alle Autoren, um die Gegenwart von Anaëroben in der Milch nachzuweisen? Die Erhitzung bis 100° zwecks Abtötung der vegetativen Formen und eine unvollständige Anaërobiose (wie es bei der Botkinschen Methode der Fall ist) behufs Begünstigung des Wachstums der Anaëroben zum Nachteile der ebenfalls sporenbildenden fakultativen Anaëroben.

Nun wissen wir, daß z. B. die Sporen des *Bacillus putrificus* Bienstock durch ein 5 Minuten andauerndes Kochen abgetötet werden, jene des beweglichen Buttersäurebacillus bei 3 Minuten langem Kochen.

Nur der unbewegliche Buttersäurebacillus sollte ein 1½-stündiges Kochen aushalten.

Mit den Methoden der genannten Autoren ließ sich also ein bemerkenswerter Befund nur für diesen letzten erzielen dank der bedeutenden Widerstandskraft seiner Sporen.

Tatsächliche quantitative Untersuchungen über sein Vorkommen in der Milch wurden nie angestellt, wie auch meine Resultate darthun dürften, die die Ansicht Flügges, daß sich während der kühleren Jahreszeiten in $\frac{1}{2}$ l Milch nur eine Spore dieses Bacillus enthalten sei, durchaus nicht bestätigen. Und überdies sind wir nicht einmal sicher, ob wirklich der Bacillus von Botkin existiert. Gemäß unseren gegenwärtigen Kenntnissen ließe alles darauf schließen, daß Botkin nicht mit Reinkulturen gearbeitet habe.

Neben dem Bacillus von Botkin können auch die von Flügge beschriebenen 3 Bacillen in Anbetracht der mangelhaften Schilderung nicht auf bekannte Arten zurückgeführt werden.

Der Bacillus, welcher im Jahre 1887 zum ersten Male von Gruber entdeckt und unter dem Namen „Amylobacter“ beschrieben, dann von Beijerinck, der ihn „Granulobacter saccharobutyricum“ nannte, ferner von v. Klecki, der ihm den Namen Bacillus saccharobutyricus gab, und schließlich von Schattenfroh und Grassberger studiert wurde, scheint nach diesen Autoren sich nur ausnahmsweise in der Milch vorzufinden.

Demnach wären die Anaëroben, die die oben erwähnte zweite Bakteriengruppe der Milchbakterien von den dreien der Flüggeschen Klassifikation darzustellen hätten, schließlich nur durch eine einzige Species vertreten, den unbeweglichen Buttersäurebacillus von Schattenfroh und Grassberger.

Neuerdings haben jedoch Tissier und Gasching unter dem Namen Bacillus lactopropylbutyricus non liquefaciens eine angeblich neue Bacillenart beschrieben, die sich sehr häufig in der süßen Milch findet, so daß dieselbe von den genannten Autoren fast in allen Proben nachgewiesen werden konnte. Dieser Bacillus, dessen Beschreibung mit der keines anderen übereinstimmt, hätte eine gewisse Analogie mit dem Bacillus von Fitz. Tissier und Gasching geben aber selber an, daß der Bacillus von Fitz ungenügend beschrieben sei, umsomehr als zur Zeit seiner Entdeckung keine Kulturen auf festen Nährböden angelegt wurden. Andererseits geben die beiden Autoren nicht an, ob ihr Bacillus als eine einzige Art anzusehen sei oder ob derselbe vielleicht eine Art mit verschiedenen Varietäten bilde. Sie begnügen sich mit der kurzen Angabe: „Les diverses échantillons isolées avaient des propriétés analogues“. Ob diese bloße Analogie eine Identifizierung gestattet, muß dahingestellt bleiben.

Der Bacillus lactopropylbutyricus non liquefaciens wurde auf 10 Milchproben 8mal gefunden.

Obwohl nicht angegeben wird, wieviel Milch für jede Untersuchung verwendet wurde, dürfen wir schon aus dem Umstande, daß die 2 französischen Autoren sich der Veillonschen Methode bedient haben, schließen, daß genannter Bacillus in der Milch zahlreich vertreten war.

Wir erlauben uns hier, die aus dem französischen Texte entnommene Beschreibung dieses Bacillus anzufügen:

Der *Bacillus lactopropylbutyricus non liquefaciens* ist ein striktes Anaërobion, das sowohl bei Zimmertemperatur als bei 37° gedeiht. Er ist ein großes, dickes Stäbchen, größer als der *Bacillus perfringens* und hat häufig in der Mitte eine Anschwellung, worin sich eine Spore befindet. Man trifft auch neben dieser letzteren Form kürzere Formen mit kantigen Enden an, die kleine Ketten von 3–4 Gliedern bilden. In den festen Nährböden sind die Bacillen länger und gewöhnlich isoliert.

Die Färbung gelingt mit den gewöhnlichen Anilinfarben und gut auch nach Gram. Wie auch bei anderen der Fall ist, färben sich diese Bacillen nur stellenweise oder entfärben sich total nach der Gramschen Methode, wenn sie eine geringere Vitalität besitzen. Sie bilden Sporen hauptsächlich in zuckerfreien Nährböden. Die Sporen sind rundlich, ein wenig eiförmig und können sich ebenso in der Mitte des Stäbchens wie auch an seinen Enden bilden.

Jodfärbung¹⁾ wird niemals beobachtet. Die Bacillen sind sehr beweglich. Die Widerstandsfähigkeit derselben ist, dank ihrer Sporen, die 2 Minuten lang die Siedehitze vertragen, eine sehr bedeutende. Fünf Minuten sind nötig, um sie abzutöten. In Zuckeragar in hoher Schicht bilden sich nach 24 Stunden linsenförmige, regelmäßige Kolonien mit feinmarkiertem Rande. Diese Kolonien können 2 oder 3 mm Durchmesser haben. Der Nährboden wird bald sauer und zerreißt infolge der großen Gasbildung. Das Wachstum der Kulturen endet gewöhnlich mit dem vierten Tage. In einigen Fällen, wenn der Stamm wenig lebensfähig ist, kann das Wachstum erst nach dem 7. Tage eintreten. Auf 20° sind die

1) Ob alle günstigen Bedingungen für das Auftreten dieser Erscheinung von den 2 französischen Autoren berücksichtigt wurden, ist aus ihrer Arbeit nicht zu ersehen. Wir möchten hier die von Schattenfroh und Grassberger an dem beweglichen Buttersäurebacillus bezüglich Granulose- und Sporenbildung gemachten Erfahrungen erwähnen:

„Ganz auffällige Neigung zur Bildung reichlicher Mengen von Granulose und Sporen zeigt sich oft in Kulturen, in welchen neben dem beweglichen Buttersäurebacillus noch andere Bakterienarten, aërobe oder anaërobe zur Entwicklung gelangen. Es gelingt nicht regelmäßig durch künstliches Zusammengeben von Reinkulturen die Bedingungen für eine besondere Granulosebegünstigung zu erzielen.“

Einmal scheinen nicht alle Bakterienarten in gleichem Grade hierzu geeignet zu sein, dann hängt aber auch das Gelingen offenbar davon ab, in welchem Verhältnis die beiden Bakterien von vornherein vorhanden sind resp. im Verlaufe der ersten Generation zur Entwicklung kommen. Aus zahlreichen Experimenten geht weiter hervor, daß sich diese Beeinflussung des Versporungsvorganges durch Symbiose vor allem dann bemerkbar macht, daß bei der Reinzüchtung aus Bakteriengemischen, insbesondere dann, wenn aus flüssigen Nährböden Zuckeragarplatten gegossen werden, die auf den Platten zur Entwicklung kommenden Kolonien sehr häufig sporenarm sind, ja daß die Generationen, welche von solchen sporenarmen Kolonien weiterhin unter verschiedensten Verhältnissen angelegt werden (auf flüssigen und festen Nährböden), oft geringe Neigung zur Versporung behalten.“

Kolonien schon nach 3 oder 4 Tagen sichtbar und der *Bacillus* ist dann sehr beweglich. In gewöhnlichem Agar ist die Entwicklung eine sehr inkonstante. In Zuckergelatine haben die Kolonien die gleiche Form wie in Zuckeragar. Der Nährboden zerreißt, wird aber nicht verflüssigt. Die gewöhnliche Bouillon trübt sich nach 2 bis 3 Tagen und am Boden des Reagenzglases bildet sich ein staubförmiger Satz. In Zuckerbouillon ist die Entwicklung sehr üppig, mit bedeutender Gasbildung. Die Bouillon ist sehr getrübt und der Bodensatz sehr reichlich. Dasselbe beobachtet man in Bouillon mit Saccharose; dagegen ist das Wachstum in Glycerinbouillon weniger üppig; ganz unbedeutend ist es in den milchzuckerhaltigen Nährböden. Wenn man diesen Flüssigkeiten, mit oder ohne Zucker, Eiweißwürfel hinzufügt, so werden dieselben nie angegriffen, obwohl das Wachstum sehr gut vor sich geht. Gekochte Stärke bleibt unter diesen Bedingungen ebenfalls unverändert. Die sterilisierte Milch wird nicht zum Gerinnen gebracht. Kasein ändert sich nicht auch bei Gegenwart von kohlensauren Salzen. Wenn man aber Glykose oder Saccharose der Milch hinzufügt, dann moussiert bald die Flüssigkeit, das Kasein fällt als festes Gerinnsel und es scheidet sich ein klares Serum ab. Die Hinzufügung von kohlensauren Salzen hindert die Fällung nicht, da das Medium immer noch sauer ist.

Wenn wir spontan geronnene Milch sterilisieren und den *Bacillus* einimpfen, dann sieht man das Serum rasch sich trüben und wie in der zuckerhaltigen Bouillon bildet sich eine enorme Menge Gas, welche die Gefäße zum Platzen bringen kann.

Dieser *Bacillus* entwickelt sich nicht in dem Nährboden von Uschinsky-Fränkell, auch nicht in dem vom Pasteur, welcher kohlensaure Salze enthält. Auch in verschiedenen sauren und nicht sauren Flüssigkeiten, welche Milchsäure, milchsäure Salze und Pepton enthielten, konnte keine Entwicklung beobachtet werden. Indes entwickelte sich dieser *Bacillus* im gewöhnlichen Harn unter Trübung desselben.

Die chemischen Eigenschaften des *Bacillus lactopropylbutyricus* sind folgende:

Er greift Stärke und Laktose nicht an. Letztere wird aber angegriffen, wenn sie vorher von anderen Bakterien abgespalten wird, was in der spontan geronnenen Milch der Fall ist. Dieser *Bacillus* greift dagegen Saccharose stark an und bildet aus derselben flüchtige Fettsäuren (Butter- und Propionsäure) und auch Milchsäure. Gewöhnlich verschwinden in 8 Tagen 25 Proz. dieses Zuckers. Am meisten wird Glykose angegriffen.

Der gesamte Säuregehalt beträgt 3—4 Prom., in Schwefelsäure berechnet, wovon zirka 2:30 von den flüchtigen und 1:13 von den fixen Säuren gebildet wird. Die flüchtigen Säuren bestehen größtenteils aus Butter- und Propionsäure, sei es in gleichen Teilen oder im Verhältnis von 2 Teilen Buttersäure auf 1 Teil Propionsäure. Die fixen Säuren werden hauptsächlich von inaktiver Milchsäure und von einer kleinen Quantität der rechtsdrehenden Milchsäure gebildet.

Der *Bacillus lactopropylbutyricus* bildet aus Glykose nur Spuren vom Alkohol. Er greift die kohlen-sauren Salze nicht an.

Glycerine wird so angegriffen, daß nach 8 Tagen ungefähr 80 Proz. verschwunden sind; aus diesem Körper wird nie Säure gebildet.

Die Eiweißkörper bleiben unverändert, solange sie nicht eine vorhergehende Hydratation erlitten haben. Aus den Proteosen bildet dieser *Bacillus* kohlen-sauren Ammoniak, Ammoniak und Spuren von Indol. Er greift auch, obwohl in unbedeutender Weise, die letzten Derivate der Proteinsubstanzen, wie den Harnstoff, an.

Wie aus obiger Beschreibung ersichtlich ist, sind genügende Merkmale vorhanden, um dem von den 2 französischen Autoren gefundenen Mikroorganismus eine eigene Stellung unter den verschiedenen Vertreter der Buttersäuregruppe zu geben.

Gewiß ist von Tissier und Gasching ihrem *Bacillus* ein mit zu großer Bestimmtheit begrenzter Spielraum zur Entfaltung der biologischen Tätigkeit gegeben worden. Die etwas zu schematische Beschreibung hat allerdings den Vorteil, die Aufmerksamkeit auf die wichtigsten Merkmale zu lenken.

Andererseits dürften die verschiedenen Abweichungen vom normalen Typus auf die näheren Beziehungen unter den verschiedenen Vertretern der Buttersäurebacillengruppe hindeuten.

So wissen wir z. B., daß die Modifikation der Milchsäure bei den einzelnen Rassen des von Schattenfroh und Grassberger genau studierten beweglichen Buttersäurebacillus eine verschiedene ist, indem von einer Reihe von Stämmen inaktive, von anderen Rechtsmilchsäure gebildet wird, was von den zitierten Autoren als Stammeseigentümlichkeit angesehen wird. Ferner wissen wir, daß nicht alle untersuchten Stämme dieses *Bacillus* sich in der sterilisierten Milch gleich verhalten. Einige rufen in derselben stürmische Gasbildung, Gerinnung des Kaseins und Entführung des Koagulums an die Oberfläche durch die entweichenden Gase hervor. Andere Stämme, die man auf andere Weise isoliert hatte, wuchsen langsamer in Milch an; in vereinzelten Fällen blieb die geimpfte Milch steril, oder das Wachstum der eingesäten Bakterien stand, bevor es noch zu hinfälligen Veränderungen der Milch gekommen war, still.

Auch bezüglich der Alkoholbildung, welche differentialdiagnostisch einen Wert haben könnte, mag folgender Passus von Schattenfroh und Grassberger angeführt werden:

„Alkohole, die von manchen Autoren als konstantes Gärprodukt des beweglichen Buttersäurebacillus gefunden wurden — es handelte sich im wesentlichen hierbei stets um Butylalkohol — fanden wir ein einziges Mal in größerer Menge bei der Analyse der Gärprodukte eines frisch aus Erde gezüchteten Stammes vor, wobei sich beim Absättigen des Destillats mit Pottasche etwa 4 ccm eines bei 118° übergehenden Alkohols abschieden; wir waren jedoch nicht im stande, bei mehrfacher Wiederholung des Versuches ein gleiches Resultat zu erzielen. Das Mengenverhältnis der

gebildeten Gärprodukte ist kein konstantes, sondern hängt von einer Reihe von Einflüssen ab.“

Die hier erwähnten Differenzen in dem Verhalten verschiedener Stämme vom beweglichen Buttersäurebacillus sind gewiß keine ausschließliche Eigentümlichkeit dieses Mikroorganismus; die anderen Vertreter dieser Gruppe, der *Bacillus lactopropylbutyricus non liquefaciens* mit inbegriffen, zeigen ebenso viele Verschiedenheiten in morphologischer und biologischer Hinsicht.

In meiner ersten Mitteilung (diese Zeitschrift. Bd. X. No. 16/17) sprach ich von in Hartkäsen gefundenen Anaëroben, die ich als neue Arten ansah.

Auf dem in Rom im Februar 1904 abgehaltenen Agrikulturrkongreß hatte ich Gelegenheit, bei meinem Vortrage einige von Herrn L. Schröter-Zürich ausgeführten Zeichnungen von Kulturen der aus Käsen isolierten Anaëroben zu zeigen. Einige dieser Anaëroben waren Buttersäurebildner, konnten aber mit den bekannten Species nicht identifiziert werden, sie waren sehr wahrscheinlich nur Varietäten derselben.

Eine Art z. B. bildete in zuckerfreier Gelatine 7 Tage nach der Impfung hirsekorngroße, rundliche, weiße Kolonien. Das Wachstum erfolgte 1—2 cm unter der Oberfläche; fast unmittelbar unter dieser letzteren bildete sich dagegen eine Färbung der Gelatine, welche fingerhutähnlich aussah. Diese Erscheinung war eine sehr häufige; einigemal war diese Trübung in Form von mehreren konzentrischen und aufeinanderliegenden Deckeln.

Dabei trat keine Spur von Verflüssigung auf. Man konnte das Reagenzglas umkehren, schütteln, es zeigte sich weder in den Gasblasen eine Bewegung noch sonst eine Veränderung, die auf Verflüssigung hingewiesen hätte.

Das Wachstum dieses Bacillus war ebenso üppig im gewöhnlichen wie in Traubenzuckeragar. Es erfolgte immer Zerreißung und Trübung des Nährbodens. Die Kolonien waren hier anstatt rundlich linsenförmig. Am üppigsten entwickelte sich dieser Mikroorganismus auf erstarrtem Rinderserum ohne Verflüssigung desselben. Sowohl im Agar- wie im Serumkondenswasser bildete sich regelmäßig Gas.

In Bouillon Trübung mit staubigem weißen Bodensatz. Aërobes Wachstum in Bouillon mit Zusatz von Schwefelnatrium (nach Trenkman). Die Milch wird sehr wenig verändert. Es bilden sich sehr kleine Gerinnsel in derselben; es kommt aber nie zur totalen Fällung des Kaseins. Dieses Anaërobion ist unbeweglich; es hat große Neigung zur Sporenbildung, so daß die aus Bouillon hergestellten Präparate fast ausschließlich Sporen zeigen. Dieser Bacillus ist der Prototypus eines Paraplektums; man findet die schönsten Klostridien und Plektridien nebeneinander.

Gehört dieser Mikroorganismus zu den Buttersäurebacillen? Nach Macé „on ne doit considérer comme ferments butyriques mais que celles qui produisent de notables proportions de cet acide, ce qui indique une réelle spécialisation fonctionnelle. Chez les autres

l'acide butyrique ne représente qu'un des stades de la dissociation moléculaire de la substance“.

Die Arbeiten aber von Schattenfroh und Grassberger haben den Beweis geliefert, daß ein exquisiter Buttersäurebacillus Buttersäure nicht immer als Hauptprodukt entstehen lassen muß.

Unser Bacillus bildet hauptsächlich aus Glykose Buttersäure in nennenswerter Menge, scheint uns also der Buttersäuregruppe zugehören. Er kommt sehr häufig im Käse vor, hauptsächlich im Parmesankäse. Seine Gegenwart in frischer Milch wurde nur ausnahmsweise konstatiert; es wäre aber möglich, durch Anwendung einer besonderen Technik ihn häufiger darin zu finden. Dieser Bacillus hat manche Eigenschaften des soeben beschriebenen Bacillus lactopropylbutyricus non liquefaciens. In manchen Beziehungen steht er dem beweglichen Buttersäurebacillus von Schattenfroh und Grassberger sehr nahe. Er scheint uns ferner eine Uebergangsform zwischen den zwei jetzt genannten Bacillen und dem unbeweglichen Buttersäurebacillus von Schattenfroh und Grassberger zu bilden.

Methodik der Züchtung und Isolierung der Anaëroben.

a) Feste Nährböden.

Die Anzahl der zur Züchtung und Isolierung der Anaëroben angegebenen Methoden ist bekanntlich eine sehr große, was schon auf die Unzulänglichkeit derselben hindeutet.

Wir haben schon an anderer Stelle darauf aufmerksam gemacht, daß, obwohl die Anwendung von flüssigen Nährmedien gewöhnlich mehr Zeit in Anspruch nimmt, als die von festen Substraten, dieselbe doch weitaus bessere Resultate liefert. Will man jedoch zu den festen Nährböden Zuflucht nehmen, so ist nach unserer Erfahrung das anaërobe Plattenverfahren die umständlichste Methode und liefert keine besonderen Vorteile. Warum sie von manchen auf diesem Gebiete namhaften Forschern empfohlen wird, ist mir unbegreiflich. Für meine Milchuntersuchungen habe ich von vornherein auf diese Methode verzichtet.

Eine einfache Methode ist diejenige, welche von den französischen Autoren nach Veillon allein genannt wird, die aber besser als die Liborins-Veillonsche Methode bezeichnet werden sollte. Dieselbe besteht darin, daß das zu untersuchende Material in flüssig gemachten, $\frac{1}{4}$ Stunde lang gekochten Zuckeragar, den man nachher auf etwa 55° abkühlen läßt, geimpft wird. Die Impfung geschieht in der Weise, daß man mit einer sterilen Pipette, welche eine Aufschwemmung des Materials enthält, ein wenig Agar aufsaugt, den man wieder zurückfließen läßt; es wird dann wieder aufgesogen, um damit ein zweites Zuckeragarröhrchen zu impfen. Mit derselben Pipette werden dann 10—12 Röhrchen geimpft, sofort in kaltes Wasser gestellt und nach Erstarrung des Nährbodens auf 37° gehalten.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Studien über die flüchtigen Fettsäuren im Käse nebst Beiträgen zur Biologie der Käsefermente.

Von Dr. Orla Jensen,

Vorstand der schweizerischen milchwirtschaftlichen Versuchsanstalt.

(Fortsetzung.)

Der zur Herstellung der Bouillon verwendete milchsaure Kalk war ein reines inaktives Salz; nach der Einwirkung von *Micrococcus casei liquefaciens* ließ sich aus der Bouillon indessen nur Rechtsmilchsäure gewinnen; diese Bakterie hat somit zuerst die Linksmilchsäure vergoren. Mit dem Nachweis, daß *Micrococcus casei liquefaciens* Milchsäure vergären kann, entsteht die Frage, ob er überhaupt direkt aus dem Milchzucker flüchtige Säuren, oder ob er nicht zuerst nur inaktive Milchsäure und dann daraus nach und nach flüchtige Säuren und Rechtsmilchsäure bildet und am Ende auch letztere vergärt. Ich bin vorläufig in diese Frage nicht tiefer eingedrungen, obwohl ihre Beantwortung eigentlich notwendig wäre, um beurteilen zu können, ob dieser Coccus ein echtes Milchsäureferment sei, d. h. ein Ferment, das direkt aus Zucker hauptsächlich nur Milchsäure bildet. In morphologischer, kultureller (Oberflächenwachstum in den Stichkulturen) und in vielen anderen Beziehungen (wie das Ausscheiden von Lab und proteolytischen Enzymen und die daraus folgende Verflüssigung der Gelatine) unterscheidet sich *Micrococcus casei liquefaciens* indessen so sehr von den echten Milchsäurefermenten, daß ich es nicht richtig finde, ihn zu denselben zu rechnen.

Noch stärker als von den milchsauren Salzen wird bei *Micrococcus casei liquefaciens* die Tiefe der Eiweißzersetzung vom Milchzucker beeinflusst. Demgemäß enthielten die Milchkulturen von diesem Coccus bloß eine Spur Buttersäure und Valeriansäure, und nach 3 Monaten waren darin nur 3,41 Proz. des Gesamtstickstoffes in Ammoniakstickstoff umgebildet worden (gegenüber 15,38 Proz. in der Peptonbouillon). Das Glycerin, welches *Micrococcus casei liquefaciens* nur schwach vergärt, übt, wie Tabelle XI zeigt, eine ähnliche Wirkung wie der Milchzucker aus.

Beyor wir zu den eigentlichen Milchsäurefermenten übergehen, möchte ich kurz einige Untersuchungen über einen Repräsentanten der Tyrothrix-Gruppe (der Heubacillen), nämlich *Bacillus nobilis* Adametz, erwähnen. Dieser Bacillus soll nach Adametz ¹⁾ die Hauptrolle bei der Reifung der Emmentalerkäse spielen, weil er in Milch einen an diese Käsesorte erinnernden Geruch hervorrufen kann. Nach v. Freudenreich soll er dagegen im Käse absolut keine Wirkung ausüben können, weil hier sein Wachstum von den Milchsäurefermenten verhindert wird. Obwohl die Beweise von Freudenreichs mir völlig überzeugend scheinen, schadet es doch nie, wo verschiedene Ansichten einander gegenüberstehen.

1) Oesterreich. Molkereiztg. 1900. No. 16—18.

auf neuen Wegen Tatsachen pro oder contra zu suchen. Aus der nachfolgenden Tabelle ersieht man die von *Bacillus nobilis* bei 35° C im Laufe von 3 Monaten in Milch hervorgerufenen Veränderungen:

Tabelle XII.

	Gefundene Mengen			Gebildete Mengen						Milchzucker in Proz. der Milch		Vergorener Milchzucker in Proz. des ursprünglichen Milchzuckers.	D. Z.	Flüchtige Säuren in Proz. des vergorenen Milchzuckers
	L. N.	Z. N.	A. N.	L. N.	Z. N.	A. N.	Z. N. in Proz. des L. N.	A. N. in Proz. des L. N.	Nicht vergoren	Vergoren				
Milch 3 ohne Kreide	95,21	46,20	18,87	81,41	40,85	17,62	50,18	21,64	3,30	2,00	37,7	68	20	

Wie die Tabelle zeigt, bildet *Bacillus nobilis* viel mehr Eiweißzersetzungsprodukte und ganz besonders viel mehr Ammoniak als *Micrococcus casei liquefaciens*. Die Kultur schmeckte im Gegensatz zu jüngeren Kulturen von *Bacillus nobilis* nicht mehr bitter, sie roch etwas nach Käse, war dunkelbraun und ließ sich leicht durch Filtrierpapier filtrieren. Das Filtrat gab einen kleinen Niederschlag sowohl durch Kochen mit Essigsäure als auch mit Kupferhydrat nach Ritthausen und enthielt Pepton. Die Acidität der Kultur war genau diejenige der ursprünglichen Milch, es müssen daher äquivalente Mengen Säure und Ammoniak gebildet worden sein. Da indessen schon die Menge der flüchtigen Säuren (D. Z. = 68) genügt, um das Ammoniak (welches in 100 ccm Kultur 67 ccm $\frac{n}{10}$ Lauge entspricht) zu neutralisieren, so können

nicht flüchtige Säuren nicht entstanden sein. Gleichwohl sind nur 20 Proz. des vergorenen Milchzuckers in flüchtige Säuren umgebildet worden, der Rest desselben muß daher in neutrale Produkte übergeführt oder, der ausgeprägt aëroben Lebensweise des *Bacillus nobilis* gemäß, vollständig verbrannt, d. h. zu CO₂ und H₂O oxydiert worden sein. Die Zusammensetzung der in der Milchkultur gebildeten flüchtigen Säuren ist aus der Tabelle XIII ersichtlich, in welcher Tabelle die Säuren, die *Bacillus nobilis* in Peptonbouillon und in solcher mit milchsaurem Kalk bildet, auch aufgeführt sind.

(Siehe Tabelle XIII p. 516.)

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß *Bacillus nobilis* aus Pepton nur Valeriansäure (Isovaleriansäure) und Buttersäure und aus milchsaurem Kalk und aus Milchzucker nur Essigsäure und (bei 35° C) Propionsäure bildet. Aus der geringen Menge Valeriansäure in den Kulturen, die milchsauren Kalk und Milchzucker enthalten, ersieht man, daß diese zwei Stoffe auch in Kulturen von

Tabelle XIII.

	Aufbewahrungs- temperatur	Alter zur Zeit der Untersuchung	D. Z.	Valeriansäure	Buttersäure	Propionsäure	Essigsäure	Gebildete Menge
								A. N.
Peptonbouillon ohne Zusatz	35° C	1 Monat	15,0	9,0	6,0	—	—	—
Peptonbouillon mit milchsaurem Kalk	35° C	1 „	50,0	0,5	6,3	11,0	32,2	—
Peptonbouillon mit milchsaurem Kalk	20° C	1 „	9,7	0,7	2,0	—	7,0	6,00
Milch 3 ohne Kreide	35° C	3 Monate	68,0	0,8	4,0	9,2	54,0	17,62

Bacillus nobilis die Tiefe der Eiweißzersetzung vermindern. Da *Bacillus nobilis* indessen viel schneller und üppiger mit milchsaurem Kalk und Milchsäure als ohne dieselben wächst, ist es deutlich, daß ihre Wirkung in diesem Fall eine schonende und keine hemmende ist.

Wie wir gesehen haben, können *Micrococcus casei liquefaciens* und *Bacillus nobilis* aus Pepton Buttersäure bilden, was jedoch nicht dazu berechtigt, sie Buttersäurefermente zu nennen, denn unter echten Buttersäurefermenten sollte man nur obligat anaerobe Bakterien verstehen, die aus Kohlehydraten oder milchsaurem Kalk Buttersäure bilden, ebenso wie man unter echten Essigsäurefermenten nur obligat aerobe Bakterien versteht, die Kohlehydrate oder Alkohol zu Essigsäure oxydieren, und die sich dazu noch durch ganz bestimmte morphologische und kulturelle Eigenschaften kennzeichnen. Berücksichtigt man nämlich diese letzteren Faktoren nicht, so könnte man auch *Micrococcus casei liquefaciens* und *Bacillus nobilis* zu den Essigsäurefermenten rechnen.

Der Käsegeruch der Kulturen von *Bacillus nobilis* wird ohne Zweifel von der Valeriansäure, der Buttersäure und dem vielen Ammoniak verursacht. Da im Emmentalerkäse nur wenig Ammoniak und nicht mehr Buttersäure, als was von der Fettspaltung herrührt, vorkommen, so sprechen meine Untersuchungen gegen die Beteiligung des *Bacillus nobilis* an der Reifung dieser Käsesorte.

Bacterium lactis acidum. Da es verschiedenen Forschern nicht gelungen zu sein scheint, die von v. Freudenreich nachgewiesene Fähigkeit der Milchsäurefermente, das Kasein zu zersetzen zu können, zu bestätigen, und da gerade dieser Punkt für die Bedeutung der Milchsäurefermente für die Käseerzeugung entscheidend ist, so wollen wir uns eingehend hiermit beschäftigen. Tabelle XIV zeigt das Verhalten von 2 aus Emmentalerkäsen isolierten Stämmen von *Bacterium lactis acidum* (a und b) gegenüber Kasein und Parakasein.

Tabelle XIV.

Eingeimpfte Bakterien	Milch-nummer	Aufbewahrungs-temperatur	Alter zur Zeit der Untersuchung	Gefundene Mengen			Gebildete Mengen				
				L. N.	Z. N.	A. N.	L. N.	Z. N.	A. N.	Z. N. in Proz. des L. N.	A. N. in Proz. des L. N.
Stamm a	1 mit Kreide	35° C	3 Mon.	17,91	6,31	0,99	2,51	2,02	0,23	80,49	9,16
„ a	1 mit Kreide	35° C	9 „	20,71	9,09	2,53	5,31	4,80	1,67	90,39	31,48
„ b	5 mit Kreide	35° C	3 „	17,05	7,88	—	4,32	1,88	—	43,52	—
„ b	5 mit Kreide	20° C	3 „	15,57	6,97	—	2,24	0,97	—	43,30	—
„ b	5 gelabt mit Kreide	20° C	3 „	19,09	6,97	—	2,43	1,01	—	41,56	—
Stamm a + <i>Micrococcus casei liquefaciens</i>	2 ohne Kreide	20° C	5 „	23,15	5,98	1,38	10,28	0,46	0,51	4,47	4,96
Stamm a + <i>Micrococcus casei liquefaciens</i>	3 mit Kreide	20° C	5 „	54,65	12,68	2,39	40,85	7,33	1,44	17,95	3,52
Stamm b + <i>Micrococcus casei liquefaciens</i>	5 mit Kreide	20° C	3 „	50,91	13,94	1,52	37,58	7,94	1,00	21,13	2,66

Die Tabelle zeigt, daß *Bacterium lactis acidii* ein nur schwaches Vermögen besitzt, sterilisiertes Kasein und Parakasein anzugreifen, daß es aber bei 35° C das Wenige, was es gelöst hat, nach und nach vollständig weiter zersetzt. Wahrscheinlich ist sein Lösungsvermögen gegenüber rohem Parakasein größer; denn einige noch nicht veröffentlichte Versuche v. Freudenreichs zeigen, daß *Bacterium lactis acidii* eine ebenso günstige Wirkung auf die Reifung der Emmentalerkäse ausübt, als die bald zu beschreibenden, kräftigen Kaseinfermente *Bacillus α* und *Bacillus ε*. Die sterilisierte Milch wurde von *Bacterium lactis acidii* nicht derart verändert, daß sie sich durch Filtrierpapier filtrieren ließ. Ohne Zusatz von Kreide gerann sie natürlicherweise; mit einem solchen Zusatz gerann sie nur bei 35° C, bei Zimmertemperatur dagegen nicht, weil hier die Milchsäure so langsam gebildet wird, daß der Kalk der Kreide sie bindet, bevor sie das Kasein entkalken kann. Eigentümlich ist es, zu beobachten, wie in solcher bei Zimmertemperatur aufbewahrten Milch die ganze Milchzuckermenge vergoren werden kann, ohne daß man sieht, daß überhaupt etwas vor sich geht. Diese Erscheinung, die sich bei allen anderen Milchsäurefermenten wiederholt, bestätigt, daß das Kasein eine stärkere Säure als die Kohlensäure ist. Letztere von Hammarsten zuerst bewiesene Tatsache geht noch deutlicher aus dem Umstand hervor, daß, wenn man mit Kreide versetzte, durch Milchsäurefermente bei 35° C geronnene Milch tüchtig durchschüttelt und

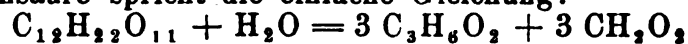
bei Zimmertemperatur aufstellt, sie allmählich wieder das Aussehen unveränderter Milch annimmt. Dieses Verhalten zeigt, daß die Milchsäurebakterien kein Labferment erzeugen, denn wäre die von ihnen hervorgebrachte Gerinnung der Milch auch von einer Labwirkung begleitet, so könnte sie nie durch Schütteln mit Kreide aufgehoben werden.

Tabelle XIV zeigt auch die Einwirkung von *Bacterium lactis acidii* im Verein mit *Micrococcus casei liquefaciens* auf Parakasein (letztere Bakterie labt ja die Milch). Da diese Einwirkung, selbst wenn die Säure durch Kreide neutralisiert wird, bedeutend schwächer ist, als diejenige von *Micrococcus casei liquefaciens* allein, so geht daraus hervor, daß *Bacterium lactis acidii* hemmend auf die Entwicklung von *Micrococcus casei liquefaciens* wirkt. Dieses gilt nicht nur für *Bacterium lactis acidii*, sondern für alle Milchsäurefermente, und zeigt sich am deutlichsten darin, daß man in Mischkulturen von *Micrococcus casei liquefaciens* mit Milchsäurefermenten, selbst wenn sie mit Kreide versetzt worden sind, nach kurzer Zeit nur noch die letzten Bakterien am Leben findet. Diese Tatsache, die auch erklärt, weshalb *Micrococcus casei liquefaciens* im Käse so schnell verschwindet, ist um so merkwürdiger, weil wir ja wissen, daß *Micrococcus casei liquefaciens* ein Ferment des milchsauren Kalkes ist; sie läßt sich jedoch einfach durch den Umstand erklären, daß *Micrococcus casei liquefaciens* viel luftbedürftiger als die echten Milchsäurefermente ist und daher leichter erstickt, wenn die Kultur an Bakterien zu reich ist.

Tabelle XV zeigt, daß *Bacterium lactis acidii* bei 35° C den Milchzucker schneller als bei Zimmertemperatur vergärt, daß es jedoch selbst nach 9 Monaten bei 35° C denselben immer noch nicht gänzlich umgebildet hat.

(Siehe Tabelle XV p. 519.)

Diese Tabelle zeigt ferner, daß der Stamm b etwas mehr flüchtige Säuren als der Stamm a zu bilden vermag, daß die Menge dieser Säuren mit dem Alter der Kultur zunimmt, und daß sie hauptsächlich aus Essigsäure bestehen, mit der Zeit jedoch auch verhältnismäßig größere Mengen Propionsäure und Ameisensäure enthalten. In einigen Fällen schienen diese zwei letzteren Säuren in äquivalenten Mengen vorhanden zu sein; den exakten Beweis hierfür zu liefern, stößt jedoch auf große Schwierigkeit, weil man nur durch sehr lange Destillation mit Wasserdämpfen die ganze Menge Ameisensäure in das Destillat hinübertreiben kann, wodurch man indessen riskiert, auch merkbare Mengen Milchsäure überzudestillieren, die, wie schon erwähnt, auf die Verhältniszahlen in derselben Richtung, wie die Ameisensäure, einwirkt. Für die Bildung äquivalenter Mengen Propionsäure und Ameisensäure spricht die einfache Gleichung:



1 Milchzucker = 3 Propionsäure + 3 Ameisensäure

Da das Molekulargewicht äquivalenter Mengen Propionsäure

Tabelle XV.

Eingeimpfte Bakterien	Milchnummer	Aufbewahrungstemperatur	Alter zur Zeit der Untersuchung	Milchzucker in Proz. der Milch		Vergorener Milchzucker in Proz. des ursprünglichen Milchzuckers	D. Z.	Es:Ps	Sonstige flüchtige Säuren	Flüchtige Säuren in Proz. des vergorenen Milchzuckers
				Nicht vergoren	Vergoren					
Stamm a	1 mit Kreide	35° C	3 Mon.	0,95	4,08	81,1	8,5	20	As:Es:Ps = 1:20:1	1,2
Stamm a	1 „ „	35° C	9 „	0,03	5,00	99,4	22,4	15	Eine Spur Ameisensäure	2,6
Stamm b	5 „ „	35° C	3 „	—	—	—	20,0	17	Eine Spur Ameisensäure	—
Stamm b	5 „ „	20° C	3 „	—	—	—	16,5	16	Eine Spur Ameisensäure	—
Stamm a + Micrococcus casei liquefaciens	2 ohne „	20° C	5 „	4,54	0,60	11,7	2,0	—	—	2,0
Stamm a + Micrococcus casei liquefaciens	3 mit „	20° C	5 „	1,24	4,06	76,6	6,8	15	As:Es:Ps = 1:15:1	1,0

und Ameisensäure gleich demjenigen der Essigsäure ist, dürfte wohl in diesem Verhältnis die Ursache zu finden sein, weshalb Propionsäure in den Milchsäurefermentkulturen bis jetzt nicht entdeckt wurde.

Wie schon mehrere Forscher gezeigt haben, wird die Hauptmenge des Zuckers der Milch von *Bacterium lactis acidum* in Rechtsmilchsäure umgebildet. Auch ich konnte dieses bestätigen, denn die aus den Kulturen dargestellten Zinklaktate hatten einen Wassergehalt von 12,8 Proz. und zeigten das Drehungsvermögen $[\alpha]_D = -10,9^\circ$.

Tabelle XVI zeigt, daß *Bacterium lactis acidum* nur ein ganz schwaches Gärungsvermögen gegenüber Milchsäure, Bernsteinsäure und Glycerin besitzt.

(Siehe Tabelle XVI p. 520.)

Bacterium lactis acidum ist das einzige echte Milchsäureferment, das sich in gewöhnlicher Peptonbouillon ohne besondere Kohlenstoffquellen entwickeln kann, es läßt sich deshalb in einem Gemisch von Milchsäurefermenten auf gewöhnlichen Gelatineplatten für sich allein zählen. Aus der Tabelle XVI geht hervor, daß *Bacterium lactis acidum* das Pepton gleich stark zersetzt, mag die Nährlösung milchsäuren Kalk enthalten oder nicht.

Tabelle XVI.

Peptonbouillon	Auf- bewahrungs- temperatur	Alter zur Zeit der Unter- suchung	Gebildeter Säuregrad in $\frac{n}{10}$ Länge	D. Z.	Es : Ps	Sonstige flüchtige Säuren	Gebildete Mengen	
							Z. N.	A. N.
mit milchsaurem Kalk	35° C	3 Monate	—	2,0	20	Eine Spur Amei- sen- säure	4,91	1,79
„ bernsteinsaur. Kalk	35° „	3 „	—	1,5	—	—	—	—
„ Glycerin	35° „	1 Monat	11	4,0	—	—	—	—
ohne Zusatz	35° „	2 Monate	—	1,0	—	—	4,22	1,49

Bacillus casei α . Tabelle XVII zeigt, was für ein kräftiges Kaseinferment *Bacillus* α ist, wenn man nur dafür sorgt, daß die gebildete Milchsäure durch Kreide abgestumpft wird.

Tabelle XVII.

Eingeimpfte Bakterien	Milch- nummer	Aufbewahrungs- temperatur	Alter zur Zeit der Untersuchung	Gefundene Mengen			Gebildete Mengen				
				L. N.	Z. N.	A. N.	L. N.	Z. N.	A. N.	Z. N. in Proz. des L. N.	A. N. in Proz. des L. N.
<i>Bacillus</i> α	3 mit Kreide	35° C	1 Mon.	32,68	22,53	2,04	18,88	17,18	0,79	—	—
„ „	1 mit Kreide	35° C	3 „	39,10	30,55	4,17	24,70	26,26	3,41	—	—
„ „	1 mit Kreide	35° C	9 „	44,69	31,57	4,80	29,29	27,28	4,04	—	—
„ „	2 ohne Kreide	20° C	5 „	12,87	6,44	1,26	0,00	0,92	0,39	—	—
„ „	1 mit Kreide	20° C	4 „	31,06	21,97	1,11	15,66	17,68	0,35	—	—
<i>Bacillus</i> α + <i>Micrococcus</i> <i>casei lique-</i> <i>faciens</i>	2 ohne Kreide	20° C	5 „	29,88	8,51	1,95	17,01	3,99	1,08	23,46	6,35
<i>Bacillus</i> α + <i>Micrococcus</i> <i>casei lique-</i> <i>faciens</i>	3 mit Kreide	20° C	5 „	69,29	19,72	3,01	55,49	14,37	1,76	26,07	3,17
<i>Bacillus</i> α + <i>Bacterium lac-</i> <i>tis acid</i>	4 gelabt, mit Kreide	35° C	3 „	33,24	21,41	3,05	18,31	15,21	2,64	—	—
<i>Bacillus</i> α + <i>Bacterium lac-</i> <i>tis acid</i>	4 gelabt, mit Kreide	20° C	3 „	34,93	16,05	1,69	20,00	9,85	1,28	49,25	6,40

Die Milch wird durch *Bacillus* α so verändert (besonders bei 35° C), daß sie sich durch Filtrierpapier filtrieren läßt. Das Filtrat ist hellbraun, riecht und schmeckt nach Bouillon, ist nicht

bitter und gibt beim Kochen mit Essigsäure eine kaum meßbare Fällung. Peptone lassen sich darin nicht nachweisen, was auch aus der Tatsache folgt, daß die Summe des gebildeten Z. N. und A. N. gewöhnlich gleich oder sogar größer als der gebildete L. N. ist, und da in dieser Summe noch nicht alle Eiweißzersetzungsprodukte inbegriffen sind, so muß man annehmen, daß *Bacillus α* nur solche bildet. Die von *Bacillus α* hervorgerufene Umbildung des Kaseins dürfte somit nach den von mir in meiner Arbeit „Studien über die Enzyme im Käse“ (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. 1900. p. 838) aufgestellten Definitionen als eine echte Eiweißgärung aufgefaßt werden. In Uebereinstimmung hiermit lassen sich auch keine proteolytischen Enzyme in den Filtraten der Kulturen nachweisen. Hervorzuheben ist, daß *Bacillus α*, trotz der großen Menge Eiweißzersetzungsprodukte, doch so wenig Ammoniak bildet; nichts könnte besser für seine Beteiligung an der Reifung des Emmentalerkäses sprechen.

Da *Bacillus α* selber ein Kaseinferment ist, greift er in Mischkulturen mit *Micrococcus casei liquefaciens* mehr Kasein an als *Bacterium lactis acidii* im Verein mit diesem Coccus vermag; es ist jedoch immerhin weniger L. N. gebildet worden als in den Reinkulturen von *Micrococcus casei liquefaciens* und kaum soviel Z. N. als in den Reinkulturen von *Bacillus α*, was zeigt, daß diese zwei Bakterien hemmend aufeinander wirken. Das vom *Micrococcus casei liquefaciens* gebildete Pepton scheint somit nicht geeignet zu sein, um von *Bacillus α* weiter zersetzt zu werden. Auch *Bacterium lactis acidii* wirkt besonders bei Zimmertemperatur, wie die Tabelle XVII zeigt, hemmend auf das Zersetzungsvermögen von *Bacillus α*.

Aus der nachfolgenden Tabelle XVIII ersieht man, daß *Bacillus α* bei 35° C schon nach 1 Monat (und vielleicht noch viel früher) jede Spur von Milchzucker vergoren hat, er ist somit ein viel kräftigeres Milchsäureferment als *Bacterium lactis acidii*.

(Siehe Tabelle XVIII p. 522.)

Diese Tabelle zeigt ferner, daß *Bacillus α* mehr flüchtige Säuren als *Bacterium lactis acidii* bildet, und daß die Menge dieser Säuren stets zunimmt, selbst nachdem aller Milchzucker vergoren ist; sie müssen also auch auf Kosten anderer Bestandteile als des Milchzuckers entstehen können. Wie bei *Bacterium lactis acidii* bestehen die flüchtigen Säuren hauptsächlich aus Essigsäure mit geringeren Mengen Propionsäure und Ameisensäure, und wie dieses Ferment, bildet auch *Bacillus α* Rechtsmilchsäure. Die bei 35° C aufgestellten Kulturen lieferten nämlich ein Zinklaktat mit 13,1 Proz. Wasser und $[\alpha]_D = -9,2^\circ$, und die bei Zimmertemperatur aufbewahrten Kulturen ein Zinklaktat mit 13,0 Proz. Wasser und $[\alpha]_D = -11,55^\circ$.

Tabelle XIX zeigt, daß *Bacillus α* mehr Milchsäure, Bernsteinsäure und ganz besonders mehr Glycerin als *Bacterium lactis acidii* vergären kann.

(Siehe Tabelle XIX p. 522.)

Tabelle XVIII.

Eingeimpfte Bakterien	Milchnummer	Aufbewahrungstemperatur	Alter zur Zeit der Untersuchung	Vergorener Milchsucker in Proz. des ursprünglichen Milchsuckers	D. Z.	Es : Ps	Sonstige flüchtige Säuren	Flüchtige Säuren in Proz. des vergorenen Milchsuckers
Bacillus α	3 mit Kreide	35° C	1 Mon.	100	35,8	—	—	3,9
" "	1 mit Kreide	35° C	3 "	100	38,5	20	Mehr Ameisensäure als Propionsäure	4,4
" "	1 mit Kreide	35° C	9 "	100	51,0	16	As : Es : Ps 1 : 16 : 1	5,8
" "	2 ohne Kreide	20° C	5 "	36,2	9,5	16	—	2,9
" "	1 mit Kreide	20° C	4 "	100	31,3	20	Etwas Ameisensäure	3,6
Bacillus α + 2 Micrococcus casei liquefaciens	2 ohne Kreide	20° C	5 "	43	18,5	16	Etwas Ameisensäure	4,8
Bacillus α + 3 Micrococcus casei liquefaciens	3 mit Kreide	20° C	5 "	100	33,5	18	As : Es : Ps 1 : 18 : 1	3,6

Tabelle XIX.

Peptonbouillon mit	Aufbewahrungstemperatur	Alter zur Zeit der Untersuchung	Gebildeter Säuregrad in 10 ccm Lauge	D. Z.	Es : Ps	Sonstige flüchtige Säuren
milchsaurem Kalk	35° C	3 Monate	—	10	20	Eine Spur Ameisensäure
bernsteinsaurem Kalk	35° C	3 "	—	4	10	Eine Spur Ameisensäure
Glycerin	35° C	1 Monat	30	8	6	Eine Spur Ameisensäure

Die Fähigkeit des Bacillus α , eine kleine Menge Glycerin vergären zu können, erklärt, weshalb diese Bakterie sich in ranziger Butter so stark vermehrt und dort im stande ist, alle anderen Milchsäurefermente zu überwuchern (vergl. meine Arbeit „Studien über das Ranzigwerden der Butter“ (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1902. p. 112). Auch das im Käse durch die Fettspeilung gebildete Glycerin wird auf die Entwicklung von Bacillus α begünstigend wirken. Wie in der Milch, so zeigte Bacillus α sich auch in der mit milchsaurem Kalk versetzten Bouillon dem Bacterium lactis acidi in Bildung von Eiweißzersetzungsprodukten überlegen, er bildete nämlich hierin 7,05 Proz. Z.N. und 1,07 Proz. A.N.

Bacillus casei ϵ erinnert in den meisten Beziehungen an **Bacillus casei** α , nur ist er ein noch kräftigeres Kasein- und Milchsäureferment. Er entwickelt sich langsamer als die anderen Milchsäurebakterien, ganz besonders bei Zimmertemperatur. In Stichkulturen wächst er am besten im unteren Teil des Stichkanals, und Milch bringt er, wie übrigens auch **Bacillus** α , zuerst am Boden zur Gerinnung. Er hat also ausgeprägt anaerobe Eigenschaften, obwohl er, wie die anderen Milchsäurefermente, auch aerob wachsen kann. Wie **Bacillus** α , scheidet er weder Lab noch nachweisbare Mengen proteolytischer Enzyme aus, sondern bildet aus dem Kasein scheinbar ganz ohne Zwischenstufen eine große Menge Aminosäuren und ein wenig Ammoniak. **Bacillus** α und **Bacillus** ϵ sind bis jetzt die einzigen Bakterien, bei welchen ein solches Verhalten beobachtet worden ist. Wie erwähnt, ändern die mit Kreide versetzten Milchkulturen der Milchsäurefermente bei Zimmertemperatur ihr Aussehen gar nicht. Hievon bildet jedoch die mit **Bacillus** ϵ geimpfte Milch eine Ausnahme, indem sie allmählich wie Gelatine erstarrt und so fest wird, daß sie sich nicht auseinander schütteln läßt. In Rein- kulturen von **Bacillus** ϵ tritt diese „Plasteinbildung“¹⁾ schon nach einem Monat ein, in Mischkulturen mit anderen Milchsäurefermenten erst später; so verstrichen im Verein mit **Bacillus** δ 1½ Monate, mit **Bacillus** γ 2 Monate, mit **Bacillus** α 4 Monate und im Verein mit diesen drei Bakterien auf einmal 5 Monate; die zwei letzteren Mischkulturen wurden jedoch nicht so fest, daß sie sich nicht auseinander schütteln ließen. Mischkulturen von **Bacillus** ϵ mit **Micrococcus casei liquefaciens** erstarren nie vollständig, sie werden nur dickflüssig. Die bei 35° C aufgestellten Milchkulturen von **Bacillus** ϵ verhalten sich dagegen wie diejenigen von **Bacillus** α , das Kasein wird ausgeschieden, und das sich oben ansammelnde Serum bräunt sich nach und nach (stärker als bei **Bacillus** α) und läßt sich leicht filtrieren. Auch die bei Zimmertemperatur erstarrten Milchkulturen von **Bacillus** ϵ lassen sich nach Verreiben mit der gleichen Menge Wasser klar durch Filtrierpapier filtrieren. Tabelle XX zeigt das Verhalten des **Bacillus** ϵ gegenüber Kasein und Parakasein.

(Siehe Tabelle XX p. 524.)

Nach vorstehender Tabelle scheint **Bacillus** ϵ im Gegensatz zu **Bacillus** α im Verein mit **Micrococcus casei liquefaciens** bei 20° C mehr Zersetzungsprodukte bilden zu können, als wenn er allein ist. Aus Tabelle XX geht ferner hervor, daß **Bacillus** α und **Bacillus** ϵ nicht hemmend aufeinander einwirken.

Tabelle XXI zeigt das Verhalten von **Bacillus** ϵ gegenüber Milchsäure.

(Siehe Tabelle XXI p. 525.)

1) Die letzterschienene Arbeit über Plasteinbildung ist von R. O. Herzog, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXXIX. 1903. p. 305. In dieser Arbeit befinden sich Literaturangaben über alle früheren diesbezüglichen Untersuchungen.

Tabelle XX.

Eingeimpfte Bakterien	Milchnummer	Aufbewahrungstemperatur	Alter zur Zeit der Untersuchung	Gefundene Mengen			Gebildete Mengen				
				L. N.	Z. N.	A. N.	L. N.	Z. N.	A. N.	Z. N. in Proz. des L. N.	A. N. in Proz. des L. N.
Bacillus ϵ	3 mit Kreide	35° C	1 Mon.	31,54	21,97	2,96	18,72	16,62	1,71	—	—
" "	1 mit Kreide	35° C	3 "	51,52	38,89	4,67	36,12	34,60	3,91	—	—
" "	1 mit Kreide	35° C	9 "	54,04	38,38	6,31	38,64	34,09	5,65	—	—
" "	2 ohne Kreide	20° C	5 "	17,47	8,74	1,26	4,60	3,22	0,38	—	—
" "	1 mit Kreide	20° C	4 "	37,37	27,77	2,65	21,97	23,48	1,89	—	—
" "	4 gelabt mit Kreide	35° C	3 "	46,48	33,24	4,17	31,55	27,04	3,76	—	—
Bacillus ϵ + Micrococcus casei liquefaciens	3 mit Kreide	35° C	3 "	65,91	37,75	4,79	52,11	32,40	3,54	62,18	6,79
Bacillus ϵ + Micrococcus casei liquefaciens	2 ohne Kreide	20° C	5 "	29,88	11,27	1,61	17,01	5,75	0,74	33,80	4,35
Bacillus ϵ + Micrococcus casei liquefaciens	2 mit Kreide	20° C	5 "	67,89	44,51	3,86	55,02	38,98	2,99	70,86	5,43
Bacillus ϵ + Bacillus α	3 mit Kreide	20° C	5 "	43,60	30,98	3,17	29,80	25,63	1,92	—	—

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß Bacillus ϵ bezüglich Bildung von flüchtigen Säuren hinter Bacillus α zurücksteht, daß er aber verhältnismäßig mehr Propionsäure als letztere Bakterie bildet.

Nach der vergorenen Zuckermenge und dem Säuregrad der nicht mit Kreide versetzten Milchkulturen läßt sich die Stärke eines Milchsäurefermentes ermesen. Tabelle XXII ist eine diesbezügliche Zusammenstellung. Da sämtliche Kulturen 5 Monate bei 20° C aufgestellt waren, ist es kaum anzunehmen, daß nach so langer Zeit ihr Säuregrad noch mehr ansteigen würde.

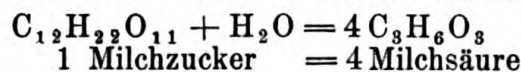
(Siehe Tabelle XXII p. 526.)

Diese Tabelle zeigt mit aller erwünschten Deutlichkeit, daß die untersuchten Milchsäurefermente von Micrococcus casei liquefaciens bis Bacillus ϵ an Stärke ganz bedeutend zunehmen. Da die Milchsäurefermente bei der Gegenwart von Pepton mehr Milchsäure als sonst bilden, so sind die Säuregrade der Mischkulturen von Bacillus α und Bacillus ϵ mit Micrococcus casei liquefaciens höher als diejenigen der Reinkulturen der 2 Bacillen. Die in der Tabelle aufgeführte „gefundene“ Milchsäuremenge ist einfach der Säuregrad — (der Säuregrad der ursprünglichen Milch + die Destillationszahl), und die „berechnete“ Milchsäuremenge ist

Tabelle XXI.

Eingeimpfte Bakterien	Milch- nummer	Aufbewahrungs- temperatur	Alter zur Zeit der Untersuchung	Vergorener Milch- zucker in Proz. des ursprünglichen Milchzuckers	D. Z.	Es : Ps	Sonstige flüchtige Säuren	Flüchtige Säuren in Proz. des vergorenen Milchzuckers
Bacillus ε	3 mit Kreide	35° C	1 Mon.	100	27	—	—	2,9
„ „	1 mit Kreide	35° C	3 „	100	28	15	Mehr Ameisensäure als Propionsäure	3,2
„ „	1 mit Kreide	35° C	9 „	100	29	7	Weniger Ameisensäure als Propionsäure	3,3
„ „	2 ohne Kreide	20° C	5 „	49,4	17	12	—	3,8
„ „	1 mit Kreide	20° C	4 „	100	22	12	—	2,5
Bacillus ε + Mi- croccoccus casei liquefaciens	3 mit Kreide	35° C	3 „	100	31	10	As : Es : Ps = 1 : 10 : 1	3,3
Bacillus ε + Mi- croccoccus casei liquefaciens	2 ohne Kreide	20° C	5 „	53,3	18	12	—	3,7
Bacillus ε + Mi- croccoccus casei liquefaciens	2 mit Kreide	20° C	5 „	100	27	11	As : Es : Ps = 1 : 11 : 1	3,0
Bacillus ε + Ba- cillus α	3 mit Kreide	20° C	5 „	100	31,5	18	As : Es : Ps = 1 : 18 : 1	3,4

aus dem Teil des vergorenen Milchzuckers, der nicht in flüchtige Säuren umgebildet worden ist, nach der Gleichung:



ausgerechnet. Die Differenz zwischen der berechneten und der gefundenen Milchsäuremenge rührt nicht daher, daß Milchsäure an den Kalk des Kaseins und der Phosphate gebunden ist, denn dadurch wird eine äquivalente Menge Kasein und Phosphorsäure frei, sie kann auch nicht lediglich von einer Bindung der Milchsäure an Kasein herrühren, denn in diesem Fall müßte sie entweder überall gleich groß sein oder mit der Säuremenge zunehmen, was keineswegs zutrifft. Die Hauptursache zu ihrer Entstehung kann deshalb kaum eine andere als diejenige sein, daß ein Teil des Milchzuckers oder der Milchsäure in Nebenprodukte wie Alkohol, Aceton und Kohlensäure (die flüchtigen Fettsäuren sind ja schon in Abzug gebracht) umgebildet worden sind. Die Tabelle XXII zeigt, daß nur bei *Micrococcus casei liquefaciens* und bei *Bacillus α*, also bei den Fermenten, die am meisten flüchtige Säuren bilden, eine nennenswerte Differenz vorhanden ist. In Uebereinstimmung hier-

Tabelle XXII.

Eingeimpfte Bakterien	Milch- zucker in Proz. der Milch		Vergorener Milch- zucker in Proz. des ursprünglichen Milchzuckers	Säuregrad von 100 ccm Kultur ausgedrückt in		Milchsäure in 100 ccm Kultur in $\text{ccm} \frac{n}{10}$ Lauge ausgedrückt		Gefundene Milch- säure in $\frac{1}{100}$ der Milch
	Nicht vergoren	Vergoren		$\text{ccm} \frac{n}{4}$ Lauge	$\text{ccm} \frac{n}{10}$ Lauge	Ge- funden	Be- rechnet	
Micrococcus casei lique- faciens	4,64	0,50	9,7	24,8	62,0	24,0	45,0	2,16
Bacterium lactisacidi + Micrococcus casei lique- faciens	4,54	0,60	11,7	35,0	87,5	68,0	68,7	6,12
Bacillus α	3,28	1,86	36,2	81,0	202,5	175,5	211,1	15,80
Bacillus α + Micrococcus casei lique- faciens	2,93	2,21	43,0	87,5	218,7	182,7	245,9	16,44
Bacillus ε	2,60	2,54	49,4	121,0	302,5	268,0	285,6	24,12
Bacillus ε + Micrococcus casei lique- faciens	2,40	2,74	53,3	137,0	342,5	307,0	308,4	27,63

mit gaben die neutralen Destillate der Kulturen dieser 2 Bakterien eine viel deutlichere Jodoformreaktion als die Destillate der Kulturen von *Bacterium lactisacidi* und von *Bacillus ε* . Es scheint somit eine Regel zu sein, daß, je mehr flüchtige Säuren die Milchsäurefermente bilden, desto mehr sie auch von den anderen die Milchsäuregärung begleitenden Nebenprodukten bilden. Da der Säuregrad, der für die Gerinnung der Milch bei Zimmertemperatur erforderlich ist, gewöhnlich 30 (in ccm $\frac{n}{4}$ Lauge ausgedrückt) beträgt¹⁾, so geht aus der Tabelle XXII hervor, daß *Bacterium lactisacidi* nicht viel mehr Säure bildet, als gerade für diesen Vorgang notwendig ist, und daß *Micrococcus casei liquefaciens* nicht einmal dieses Maß erreicht. In der Tatsache, daß *Micrococcus casei liquefaciens* gleichwohl die Milch zur Gerinnung bringt, liegt ein direkter Beweis dafür, daß diese Bakterie Lab erzeugt.

Die Kulturen von *Bacillus α* und besonders *Bacillus ε* waren nicht so fest geronnen wie diejenige von *Bacterium lactisacidi*, was wohl teils durch die große Milchsäuremenge, teils durch

1) Ebenso wie die für die Gerinnung einer Milch nötige Labmenge von der Temperatur und Einwirkungs-dauer abhängt, wird auch die für die Gerinnung einer Milch nötige Säuremenge von denselben Faktoren beeinflusst, so habe ich z. B. Reinkulturen von *Bacterium lactisacidi* beobachtet, die bei 35° C schon mit einem Säuregrad von 18 geronnen waren.

eine schwache Zersetzung des Kaseins verursacht wurde. Sie schmeckten nicht nur mild sauer wie geronnene Milch (d. h. Kulturen von *Bacterium lactis acidii*), sondern sehr stark sauer; die Kulturen von *Bacillus* ϵ hatten dazu noch einen an Tomaten erinnernden Geschmack. Die eingepfropften Bacillen waren zur Zeit der Untersuchung noch am Leben, was zeigt, daß sie ganz beträchtliche Milchsäuremengen (1,6 bzw. 2,7 Proz.) vertragen können. Es ist daher einleuchtend, daß *Bacillus* α und noch mehr *Bacillus* ϵ in einer Mischkultur von Milchsäurefermenten, wie sie der in der Emmentalerkäsefabrikation verwendete Sauer darstellt, die Oberhand gewinnen. Eine andere Erklärung dieser Tatsache liegt darin, daß *Bacillus* ϵ , wie v. Freudenreich und ich ¹⁾ gezeigt haben, der beim Speisen des Sauers entstehenden Temperatur von 60° C eine Zeit lang widerstehen kann.

Im Gegensatz zu den vorhergehenden Fermenten bildet *Bacillus* ϵ in Milch inaktive Milchsäure, was daraus hervorgeht, daß die aus den Kulturen dargestellten Zinklaktate 18,2 Proz. H₂O und 27,5 Proz. ZnO enthielten und kein Drehungsvermögen zeigten.

Aus Tabelle XXI geht hervor, daß die Menge der flüchtigen Säuren in den Milchkulturen von *Bacillus* ϵ nicht merkbar zunimmt, nachdem der Milchzucker vergoren ist, und aus der Tabelle XXII ersieht man, daß die Differenz zwischen der berechneten und der gefundenen Milchsäuremenge in den Kulturen von *Bacillus* ϵ nur gering ist. Diese beiden Befunde weisen darauf hin, daß *Bacillus* ϵ die gebildete Milchsäure nicht weiter zersetzen kann. Dieses wurde auch durch den direkten Versuch mit der mit milchsaurem Kalk versetzten Peptonbouillon bestätigt. In dieser Nährlösung entwickelt *Bacillus* ϵ sich überhaupt nur spärlich. Aus dem Pepton bildete er 2,99 Proz. Z. N. und 0,96 Proz. A. N. Bernsteinsäure und Glycerin greift er nicht an.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis der Umbelliferen bewohnenden Puccinien.

Von **Franc. Ottavio Semadeni**, Poschiavo-Graubünden.

Mit 5 Figuren.

(Schluß.)

Am 10. August wurden die Pflanzen einer Durchmusterung unterworfen. *Angelica silvestris* (XXV 1 und XXV 2) trug an den meisten Blättern zahlreiche Uredolager. *Archangelica* off., *decurrens*, *atropurpurea* und *littoralis* (XXV 3 bis XXV 9) erwiesen sich auch als mit *Uredo* befallen. *Peucedanum* und *Aethusa* (XXV 10 und XXV 11) hingegen stellten sich als pilzfrei heraus.

¹⁾ Ueber den Einfluß des Naturlabes auf die Reifung des Emmentalerkäses. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1897. p. 550.)

Am 16. August traten überall an den infizierten Pflanzen Teleutosporen vom Typus der *Puccinia Angelicae* (Schum.) Fuck. auf. An *Peucedanum* und *Aethusa* konnte auch bei dieser 2. Kontrolle keine Infektion bemerkt werden.

Das gleiche gilt auch für die Kontrollpflanzen dieser Versuchsreihe, die an jenem Tag einer letzten Durchsicht unterzogen wurden.

Das Ergebnis des Versuches XXV bestätigt also in allen Punkten dasjenige des vorigen. Aus beiden ergibt sich, daß die *Puccinia Angelica* (Schum.) Fuck., von *Angelica silvestris* stammend, auf *Archangelica officinalis*, *atropurpurea*, *decurrens* und *littoralis* übergeht, und daß sie nicht identisch ist mit *Puccinia Petroselini* (D.C.) Lindr., von *Aethusa Cynapium* stammend, und mit *Puccinia bullata* (Pers.) auf *Peucedanum palustre*. Letzteres spricht besonders für die von Lindroth auf morphologischem Wege vorgenommene Artumgrenzung der *Bullata*-Formen. Die erste Hälfte des Resultats schließlich läßt uns vermuten, daß *Puccinia Angelicae* (Schum.) Fuck. nicht als Sammelspecies, sondern als feste Art aufzufassen sei. Das letzte Wort in dieser Sache kann natürlich auch hier nur nach erfolgten Infektionsversuchen mit den Formen auf *Archangelica*-Arten gesprochen werden.

Tabelle zu den Infektionsversuchen XXIV—XXV.

Versuchspflanzen	Infektionsmaterial und Versuchsnummer	
	XXIV	XXV
	Uredosporen von <i>Angel. silvestris</i>	Uredosporen von <i>Angel. silvestris</i>
<i>Angelica silvestris</i>	+	+
<i>Archangelica officinalis</i>	+	+
„ <i>decurrens</i>	+	+
„ <i>atropurpurea</i>	+	+
„ <i>littoralis</i>	+	+
<i>Aethusa Cynapium</i>	—	—
<i>Peucedan. palustre</i>	—	—

Erklärung der Zeichen: + = positiver Erfolg; — = negativer Erfolg.

8. *Puccinia bullata* (Pers.).

Zu dieser Art rechnet Lindroth¹⁾ die Formen der früheren *Puccinia bullata* (Pers.) nach Abtrennung derjenigen, welche die jetzigen *Puccinia Petroselini* (D.C.) Lindr., *Puccinia Libanotidis* Lindr., *Puccinia Angelicae* (Schum.) Fuck. und *Puccinia Athamanthae* (D.C.) Lindr. ausmachen. Sie umfaßt somit Formen auf zahlreichen Nährpflanzen. Daher glaubt Lindroth, daß sie in der von ihm gegebenen Umgrenzung nur eine

1) c. p. 103—106.

kollektive Art darstelle, die durch künftige Kulturversuche in mehrere Species zu zerspalten sei.

Um nun zu entscheiden, ob die Vermutung Lindroths für die Form auf *Silauus pratensis* zutrefte oder nicht, führte ich folgenden Versuch aus:

XXVI. Infektionsversuch mit Uredosporen von *Puccinia bullata* (Pers.), von *Silauus pratensis* stammend.

Am 30. Juli 1903 sammelte Herr Th. Wurth bei Landquart (Kt. Graubünden) Uredosporen der *Puccinia bullata* (Pers.) auf *Silauus prat.* Damit besäte ich am 1. August folgende Versuchspflanzen:

- | | |
|---|--|
| XXVI 1. <i>Silauus pratensis</i> | } im Juli 1903 bei Zimmerwald (Kt. Bern)
ausgegraben und eingetopft. |
| XXVI 2. " " | |
| XXVI 3. " " | |
| XXVI 4. " " | |
| XXVI 5. <i>Peucedanum palustre</i> | } im Juli 1902 bei Blumenstein (Kt. Bern)
ausgegraben und eingetopft. |
| XXVI 6. " " | |
| XXVI 7. <i>Selinum Carvifolia</i> , gezogen 1903 aus Samen von Paris. | |
| XXVI 8. <i>Peucedanum alsaticum</i> , gezogen 1903 aus Samen von Gießen. | |
| XXVI 9. <i>Selinum Carvifolia</i> , gezogen 1903 aus Samen von Paris. | |
| XXVI 10. <i>Seseli montanum</i> | } im Berner botanischen Garten kultiviert. |
| XXVI 11. " " | |
| XXVI 12. " <i>Pallasii</i> , gezogen 1903 aus Samen von Göttingen. | |
| XXVI 13. <i>Peucedanum graveolens</i> , gezogen 1903 aus Samen von Paris. | |
| XXVI 14. <i>Seseli glaucum</i> , gezogen 1903 aus Samen von Göttingen. | |
| XXVI 15. <i>Peucedanum austriacum</i> , gezogen 1903 aus Samen von Göttingen. | |
| XXVI 16. <i>Aethusa Cynapium</i> , im Herbst 1902 ausgegraben und eingetopft. | |
| XXVI 17. <i>Seseli cachroides</i> , gezogen 1903 aus Samen von Paris. | |
| XXVI 18. <i>Angelica silvestris</i> , im Juli 1902 b. Bern ausgegraben u. eingetopft. | |

Am 26. August konnten an *Silauus pratensis* (XXVI 1 und XXVI 4) an den meisten Blättern zahlreiche Uredolager konstatiert werden. Die 2 anderen Exemplare von *Silauus* (XXVI 2—XXVI 3) fanden sich als verwelkt vor. Eine weitere Infektion wurde einzig bei *Seseli glauc.* (XXVI 14) bemerkt, welches an einigen Blättern vereinzelte Uredolager trug. Die übrigen Versuchspflanzen (XXVI 5—XXVI 13 und XXVI 15—XXVI 18) erwiesen sich als pilzfrei — Resultat, das sich bei späteren Kontrollen nicht änderte.

Die Kontrollpflanzen dieser Versuchsreihe, die als solche auch dem früher besprochenen Versuche XV dienten, konnten erst am 30. August einer genauen Durchsicht unterzogen werden. Dabei stellte es sich heraus, wie bereits im Versuch XV angegeben, daß *Seseli glaucum* an einigen Blättern junge Uredolager trug. Daraufhin wurden die auf *Silauus* und *Seseli* im Versuche XXVI gewonnenen Uredosporen, sowie diejenigen der infizierten Kontrollpflanze mikroskopisch untersucht. Folgendes ist das Resultat jener Prüfung:

Uredosporen auf *Silauus prat.*, vom Versuch XXVI stammend:
Sporen länglich-elliptisch, selten breit-elliptisch.

Uredosporen auf *Seseli gl.*, vom Versuch XXVI stammend:
Sporen länglich-elliptisch, selten breit-elliptisch.

Uredosporen auf *Seseli gl.*, das als Kontrollpflanze diente:
Sporen gerundet, selten breit-elliptisch.

Vergleichen wir nun diese Ergebnisse miteinander, so erkennen wir sofort, daß die 2 ersten Sporenarten unter sich gleich, von der 3. aber verschieden sind. Mit anderen Worten, die auf *Seseli glauc.* im Versuch XXVI erzielten Uredosporen rühren von der Infektion des 1. August her.

Was nun die Sporen der Kontrollpflanzen anbelangt, so habe ich schon früher, bei der Besprechung des Versuches XV, angegeben, daß sie identisch sind mit denjenigen der *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindroth und von einer Fremdinfection herrühren. Ich verweise daher um weitere Aufschlüsse auf die betreffende Stelle im Versuche XV.

Am 9. September wurden sowohl an *Silaus* als auch an *Seseli* Teleutosporen vom Typus der *Puccinia bullata* (Pers.) bemerkt.

Fassen wir nun das Resultat dieser Versuchsreihe in einigen Sätzen zusammen, so können wir sagen: *Puccinia bullata* (Pers.), von *Silaus pratensis* stammend, geht auf *Seseli glaucum* über. Sie scheint nicht identisch zu sein mit *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindr. auf *Aethusa Cynapium*, mit *Puccinia Angelicae* (Schum.) Fuck. auf *Angelica silvestris* und scheint es auch nicht zu sein mit den Bullataformen auf *Peucedanum palustre*, *Peucedanum alsat.*, *Selinum Carvifolia*, *Seseli montanum* etc. Weitere Infektionsversuche mit dieser *Puccinia* mußten wegen Abschlusses der vorliegenden Arbeit unterbleiben. Sollen nun spätere Experimente das Ergebnis der Versuchsreihe XVI bestätigen, und sollten spätere Untersuchungen zeigen, daß die Form auf *Silaus pratensis* sich von den übrigen Bullatae morphologisch nicht unterscheidet, so müßte dann *Puccinia bullata* (Pers.) in der von Lindroth gegebenen Umgrenzung als Kollektiv-Art betrachtet werden. Die *Puccinia* auf *Silaus pratensis* wäre dann als biologische Art aufzufassen mit den Nährpflanzen *Silaus pratensis* und *Seseli glaucum*.

(Siehe Tabelle XXVI p. 531.)

Der Vollständigkeit halber sei am Ende dieses Abschnittes noch folgendes bemerkt: Im Jahre 1902 leitete ich mit *Puccinia bullata* (Pers.), von *Peucedanum palustre* stammend, 2 Infektionsversuche ein auf *Peucedanum palustre*, *Aethusa Cynapium*, *Petroselinum sativum*, *Conium maculatum*, *Angelica silvestris* und *Libanotis montana*. *Silaus pratensis* stand mir damals nicht zur Verfügung. *Selinum Carvifolia*, *Seseli montanum*, *Peucedanum alsaticum* etc. wurden nicht berücksichtigt, weil mir zu jener Zeit die Arbeit Lindroths, „Umbelliferen-Uredineen“, nicht bekannt war. Als Resultat in beiden Versuchen ergab sich ein positiver Erfolg einzig auf *Peucedanum*, ein negativer hingegen auf den übrigen Versuchspflanzen. Die Versuche hatten aber gezeigt, daß *Puccinia*, von *Peucedanum palustre* stammend, nicht identisch ist mit *Puccinia Petroselini* (D. C.) Lindr. auf *Aethusa*

Tabelle zu Infektionsversuch XXVI.

Versuchspflanze	Infektionsmaterial von Versuchsnummer
	XXVI
	Uredosporen von <i>Silau pratensis</i> stammend
<i>Silau pratensis</i>	+ ¹⁾
<i>Selinum Carvifolia</i>	—
<i>Seseli montanum</i>	—
„ <i>Pallasii</i>	—
„ <i>glaucum</i>	+ + ²⁾
„ <i>cachroides</i>	—
<i>Peucedanum palustre</i>	—
„ <i>alsaticum</i>	—
„ <i>austriacum</i>	—
„ <i>graveolens</i>	—
<i>Aethusa Cynapium</i>	—
<i>Angelica silvestris</i>	—

Erklärung der Zeichen: + = positiver Erfolg; — = negativer Erfolg;
+ + = teilweiser Erfolg.

Cynapium und *Petroselinum sativum*, *Puccinia Conii* (Strauss) Fuck. auf *Conium maculatum*, *Puccinia Angelicae* (Schum.) Fuck. auf *Angelica silvestris* und *Puccinia Libanotidis* Lindr. auf *Libanotis montana*. Mit anderen Worten, sie hatten Uebereinstimmung mit der Lindrothschen Umgrenzung der *Puccinia bullata* (Pers.) auf *Peucedanum palustre* ergeben. Da ich aber weder im Herbst 1902 noch im Sommer 1903 jene *Puccinia* wiederfand, so konnte es zu einer Untersuchung im Sinne wie bei *Silau pratensis* nicht mehr kommen. Von einer eingehenden Darstellung der genannten zwei Versuche sehe ich aber, der Kürze wegen, in dieser Arbeit ab, begnüge mich also mit der Angabe der nackten Tatsachen, wie dies eben geschehen ist.

9. *Puccinia Aegopodii* (Schum.) Mart.

Diese *Puccinia* soll nach den jetzigen Autoren (Bubák, Lindroth u. a.) einzig auf *Aegopodium Podagraria* vorkommen. Die betreffenden Angaben stützen sich aber nur auf das morphologische Verhalten dieses Pilzes gegenüber den übrigen Mikropuccinien. Infektionsversuche fehlen also auch hier vollständig.

Um diese Lücke gewissermaßen auszufüllen, leitete ich im Herbst 1902 nachstehenden Kulturversuch ein.

XXVII. Infektionsversuch mit Teleutosporen von *Puccinia Aegopodii* (Schum.) Mart., von *Aegopodium Podagraria* stammend.

Im Sommer 1903 fand ich auf *Aegopodium Podagraria* Teleutosporen obiger *Puccinia*. Ich sammelte sorgfältig die da-

1) 2 Versuchspflanzen infiziert, 2 verwelkt.

2) An einigen Blättern der Versuchspflanzen spärliche Infektion.

mit infizierten Blätter, brachte diese in ein Säckchen und bewahrte das Ganze an geeigneter Stelle bis zum Herbst auf. Im Oktober füllte ich dann mit diesem Material den Boden der zu diesem Versuche gewählten Pflanzen aus und deckte es mit Erde zu. Darauf brachte ich die betreffenden Töpfe an einen im Freien sich befindenden Ort, woselbst sie bis zum Versuchsabschluß verblieben. Folgende Pflanzen waren in jenem Versuch vertreten:

XXVII 1. <i>Aegopodium Podagraria</i>	} vom Berner botan. Garten stammend.
XXVII 2. " "	
XXVII 3. <i>Imperatoria Ostruthium</i>	} im Berner botan. Garten kultiviert.
XXVII 4. " "	
XXVII 5. <i>Astrantia major</i>	} im August 1902 bei Poschiavo (Kt. Graubünden) ausgegraben und eingetopft.
XXVII 6. " " minor	
XXVII 7. " "	}
XXVII 8. " "	

Am 22. Mai erfolgte die erste Kontrollierung. XXVII 1 und XXVII 2 (*Aeg. Podg.*) trugen an den meisten Blättern und an zahlreichen Blattstielen junge Teleutosporenlager, worin Teleutosporen vom Typus der *Puccinia Aegopodii* (Schum.) Mart. nachgewiesen wurden. Die Zahl derselben vermehrte sich im Laufe der darauffolgenden Woche, so daß am 28. Mai an *Aeg. Podg.* (XXVII 1 und XXVII 2) eine starke Infektion zu beobachten war. Die übrigen Versuchspflanzen (XXVII 3—XXVII 8) blieben während der ganzen Versuchszeit pilzfrei. Das Experiment hat also auf *Aegopodium Podagraria* einen schönen positiven Erfolg, auf *Imperatoria Ostruthium*, *Astrantia major* und *minor* hingegen einen negativen erzielt. Wir können deshalb folgern, daß die *Puccinia Aegopodii* (Schum.) Mart. nicht identisch zu sein scheint mit *Puccinia Astrantiae* Kalchbr. und *Puccinia Imperatoriae* Jacky.

Tabelle zu Infektionsversuch XXVII.

Versuchspflanze	Infektionsmaterial und Versuchsnummer
	XXVII
	Teleutosporen von <i>Aegopodium Podagraria</i>
<i>Aegopodium Podagraria</i>	+
<i>Imperatoria Ostruthium</i>	—
<i>Astrantia major</i>	—
" minor	—

Erklärung der Zeichen: + = positiver Erfolg; — = negativer Erfolg.

10. *Puccinia Pozzii* Semadeni nov. spec.¹⁾

Im Juli 1902 sammelte ich bei Grindelwald (Kt. Bern) eine *Micropuccinia* auf *Chaerophyllum hirsutum* v. *glabrum*. Mit deren Teleutosporen leitete ich im Frühjahr 1903 einen Infektionsversuch ein auf *Chaerophyllum hirsutum* v. *glabrum*, *Chaerophyllum hirsutum*, *Chaerophyllum Villarsii*,

1) Diese *Puccinia* ist nach P. Pozzi, dem verstorbenen verdienstvollen Arzte und Floristen meines Heimatales Puschlav benannt.

Imperatoria Ostruthium, *Astrantia major* und *minor* und *Aegopodium Podagraria*. Der Versuch bezweckte Aufschluß über die Identität dieser Form mit den übrigen Mikropuccinien. Leider mißlang er aus mir unbekannten Gründen. Indessen konnte ich auf mikroskopischem Wege feststellen, daß es sich hier um eine neue Art handle.

Die reifen Lager, sowie die Sporen dieser neuen Species ähneln denjenigen der *Puccinia Astrantiae* Kalchbr. Von dieser läßt sich *Puccinia Pozzii* auseinander halten durch die Höhe der Keimporenpapille, welche bei letzterer bis $3,5\ \mu$ betragen kann. Große Aehnlichkeit besitzt ferner unsere neue Art auch mit *Puccinia Imperatoriae* Jacky, von der sie sich aber durch kürzere und breitere Keimporenwarzen unterscheidet. Von *Puccinia enormis* Fuck. auf *Chaerophyllum Villarsii* ist sie durch die Lage des Keimporus der Basalzelle verschieden, der bei *P. Pozzii* von der Scheidewand bis zum Stiele alle möglichen Lagen einnimmt. Im folgenden habe ich versucht, die mir bei der Untersuchung aufgefallenen Merkmale zu einer kurzen Diagnose zusammenzustellen.

Beschreibung:

Puccinia Pozzii Sem. nov. spec.

Teleutosporenlager blattunterseits in kleineren oder größeren Gruppen zusammenstehend, an den Blattstielen schwielensartige Biegungen hervorrufend, bei der Reife schokoladebraun und staubig. Teleutosporen verkehrteiförmig, ellipsoidisch oder oblong, oft unregelmäßig und eckig, in der Mitte nicht oder kaum eingeschnürt (Fig. 1).

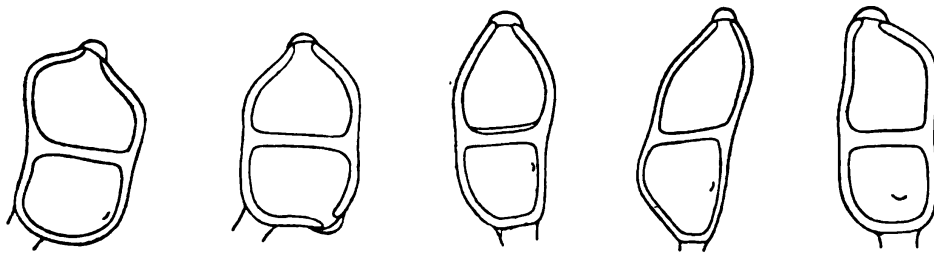


Fig. 1. Teleutosporen von *Puccinia Pozzii* Sem. nov. spec. Vergrößerung: ungefähr $650\ \mu$.

Keimporus der oberen Zelle in der Regel scheitelständig, derjenige der Basalzelle von der Scheidewand bis zum Stiele alle möglichen Lagen einnehmend. Membran gelblichbraun, gleichmäßig ausgebildet und glatt. Keimporenpapillen stets hervortretend, dabei breit, gerundet und bis $3,5\ \mu$ hoch. Länge der Sporen $22-45\ \mu$, Durchmesser derselben $14-28\ \mu$. Auf *Chaerophyllum hirsutum* v. *glabrum*: Schweiz, Grindelwald (Kt. Bern), Juli 1902 (!! 1)¹⁾.

1) !! = von mir gesammelt, 1 = Herbarium O. Semadeni.

B. Heteroecische Arten.**11. Puccinia Cari-Bistortae Klebahn.**

An Hand von Kulturversuchen wurde in der Schweiz Pucc. Cari-Bistortae Kleb. zum erstenmal durch Prof. Ed. Fischer nachgewiesen. Indessen wurde bis jetzt der Beweis noch nicht erbracht, daß die in der Schweiz lebende P. Cari-Bistortae Kleb. mit Pucc. Angelicae-Bistortae Kleb. wirklich identisch sei. Ein von mir in diesem Sinne im Juni 1903 eingeleiteter Versuch verlief leider resultatlos. Das Experiment, das hier in aller Kürze beschrieben werden soll, wurde im Jahre 1902 eingeleitet, um zu erfahren, ob die Uredo- und Teleutosporen der Puccinia Cari-Bistortae Kleb. auch auf Polygonum viviparum leben können oder nicht.

XXVIII. Infektionsversuch mit Uredosporen von Puccinia Cari-Bistortae Kleb., von Polygonum Bistorta stammend.

Am 21. Juli 1902 sammelte ich in Grindelwald (Kt. Bern) auf Polygonum Bistorta Uredosporen von der genannten Puccinia. In deren unmittelbaren Nähe wuchs Carum Carvi. Mit diesem Material besäte ich am 23. Juli folgende Versuchspflanzen:

XXVIII 1.	Polygonum Bistorta	} im Berner botan. Garten kultiviert.
XXVIII 2.	"	
XXVIII 3.	" viviparum	
XXVIII 4.	"	

Am 12. August bemerkte man an Polygonum Bistorta (XXVIII 1 und XXVIII 2) Uredo- und Teleutosporen. Polygonum viviparum (XXVIII 3 und XXVIII 4) trug ebenfalls eine solche Infektion. In beiden Fällen ließen sich die Teleutosporen identifizieren mit denjenigen der Puccinia Cari-Bistortae Kleb. Da nun die Kontrollpflanzen zu dieser Versuchsreihe pilzfrei blieben, so müssen wir annehmen, daß unsere Infektion auf Polygonum Bistorta und Polygonum viviparum einen Erfolg erzielte. Aus Versuch XXVIII ergibt sich also, daß Puccinia Cari-Bistortae Kleb. ihre Uredo- und Teleutosporen sowohl auf Polygonum Bistorta als auch auf Polygonum viviparum bildet.

12. Puccinia auf Polygonum viviparum.

In den Alpen tritt häufig auf Polygonum viviparum eine Puccinia auf, die der Puccinia Cari-Bistortae Kleb., resp. ihrer Uredo- und Teleutosporenform, und der Puccinia Polygoni-vivipari Karst. wohl am nächsten stehen dürfte. Von der ersten unterscheidet sie sich durch ihre kleineren Teleutosporen, wie dies aus nachstehender Zusammenstellung, die eigenen Untersuchungen entnommen ist, hervorgeht.

Teleutosporen der P. Cari-Bistortae Kleb.: Länge 28 bis 42 μ , Breite 16–25 μ .

Teleutosporen der P. auf *Polyg. vivipar.*: Länge 19–28 μ , Breite 14–19 μ .

Mit *Puccinia Polygoni vivipari* Karst., die ihre Aecidien auf *Angelica silvestris* bildet, scheint sie auch nicht identisch zu sein, da in unseren Alpen *Angelica silvestris* niemals mit diesen *Puccinia* vergesellschaftet gefunden worden ist. Hingegen läßt sich vermuten, daß diese *Puccinia* zu einer heteroecischen Art gehört, deren bis jetzt noch unbekannte Aecidien auf *Carum Carvi* sich bilden, da diese Umbellifere in ihrer Nähe stets getroffen wird.

Im August 1902 hatte ich nun Gelegenheit, Teleutosporen dieses Pilzes auf Blättern von *Polygonum viviparum*, welches neben *Carum Carvi* wuchs, am Berninapß (1850 m) zu sammeln. Im Frühling 1903 besäte ich damit Sämlinge von *Carum Carvi*, *Angelica silvestris* und *Meum Mutellina*, um näheres über die Entwicklungsgeschichte dieser *Puccinia* zu erfahren. Leider mißlang der Versuch.

Dagegen lasse ich hier einen Versuch mit Uredosporen folgen, den ich im vorhergehenden Jahre mit Erfolg eingeleitet hatte.

XXIX. Infektionsversuch mit Uredosporen von einer *Puccinia* auf *Polygonum viviparum*.

Am 21. Juli fand Herr Th. Wurth oberhalb Grindelwald, auf dem Wege nach dem oberen Gletscher, auf *Polygonum viviparum* Uredosporen von der am Eingang dieses Abschnittes erwähnten *Puccinia*. In ihrer Nähe beobachtete er bloß *Carum Carvi*. *Angelica silvestris* wuchs also an der Sammelstelle nicht. Diese Sporen übertrug ich am 22. Juli auf:

XXIX 1. <i>Polygonum viviparum</i>	} im Berner botan. Garten kultiviert.
XXIX 2. " "	
XXIX 3. " <i>Bistorta</i>	
XXIX 4. " "	

Am 11. August ergab die Durchsicht folgendes Resultat:

XXIX 1 (<i>Polyg. vivip.</i>):	5 Bl. m. Uredo- u. Teleutosp. gleichmäß. befallen.
XXIX 2 (<i>Polyg. vivip.</i>):	3 " " " " " "
XXIX 3 (<i>Polyg. Bist.</i>):	4 " " " " " "
XXIX 4 (<i>Polyg. Bist.</i>):	2 " " " " " "

1 Blatt weniger stark befallen.

Am 29. August konnte unter anderem an XXIX 4 eine Zunahme der Infektion konstatiert werden. Der Erfolg in diesem Versuche ist also, da die Kontrollpflanzen gesund blieben, der Infektion vom 22. Juli zuzuschreiben. Nachträglich wurde dann konstatiert, daß die sämtlichen Teleutosporen dieser Reihe sich, als zum kleinsporigen Typus gehörend, herausstellten.

Aus Versuch XXIX ergibt sich also, daß die in den Alpen beobachtete kleinsporige *Puccinia* auf *Polygonum viviparum* sich auch auf *Polygonum Bistorta* entwickeln kann.

Vergleichen wir nun die Resultate der Versuche XXVIII und XXIX, so können wir aus ihnen folgern, daß in der Schweiz, resp. in den Alpen sowohl auf *Polygonum viviparum*

als auch auf *Polygonum Bistorta* eine großsporige und eine kleinsporige *Puccinia* vom Typus der *Puccinia Bistortae* vorkommt. Von der großsporigen wissen wir, daß zu ihr ein *Aecidium* auf *Carum Carvi* gehört, während von der kleinsporigen wir das bloß vermuten können. Ob *Angelica silvestris* in den Entwicklungskreis dieser 2 *Puccinien* fällt, kann nur durch Kulturversuche entschieden werden.

13. *Aecidium Mei Schroeter*.

Bubák¹⁾ vermutet, daß dieses *Aecidium* zur montanen Form der *Puccinia mamillata* Schroeter auf *Polygonum Bistorta* gehört. Indessen haben seine Versuche, soweit ich die Sache verfolgen konnte, noch zu keinem positiven Resultat geführt.

Am 24. Juli 1902 fand ich am Fuße des „Vreneli“ bei Isenfluh (Berner Oberland) das *Aecidium Mei Schroeter* in zahlreichen Exemplaren. *Polygonum Bistorta* war aber in jener Gegend nirgends zu finden. Dafür wuchs aber in der Nähe von Meum *Mutellina Polygonum viviparum*. Es lag also die Vermutung nahe, anzunehmen, daß die Uredo- und Teleutosporen, zum *Aecidium Mei Schroet.* gehörend, auf *Polygonum viviparum* zu suchen sein. In diesem Sinne leitete ich am 25. Juni den nachstehenden Infektionsversuch ein.

XXX. Infektionsversuch mit *Aecidiosporen* von *Aecidium Mei Schroet.*, von Meum *Mutellina* stammend.

Am 25. Juni 1902 wurden mit genanntem Material folgende Versuchspflanzen infiziert.

XXX 1. <i>Polygonum viviparum</i>	} im Berner botanischen Garten kultiviert.
XXX 2. " "	
XXX 3. " "	
XXX 4. " "	
XXX 5. " "	
XXX 6. <i>Polygonum Bistorta</i>	
XXX 7. " "	
XXX 8. " "	
XXX 9. Meum <i>Mutellina</i>	

Am 12. August wurde folgendes beobachtet:

XXX 1—XXX 5 (Polyg. viv.): Pflanzen verwelkt.

XXX 6 (Polyg. Bistort.): 1 Blatt mit vereinzelt Uredo- und Teleutosporenlagern.

XXX 7 (Polyg. B.): 1 Blatt an der Spitze mit Uredo- und Teleutosporenlagern infiziert.

XXX 8 (Polyg. Bistorta): 1 Blatt zahlreiche Teleutosporenlager aufweisend.

XXX 9 (Meum *Mutellina*): Pflanze pilzfrei.

Am 29. August waren an den Blättern von *Polygonum Bistorta* (XXX 6—XXX 8) nur noch Teleutosporenlager zu erblicken. Spätere Untersuchungen zeigten, daß die im Versuch XXX

1) Bubák, „Ueber einige Umbelliferen bewohn. Puccinien“, Separatabdruck aus dem Sitzungsbb. d. Königl. Böhm. G. d. W. in Prag, 1900, I., p. 7.

auf *Polygonum Bistorta* erzielten Teleutosporen identisch sind mit den betreffenden Sporen der *Puccinia mamillata* Schroeter. Die Kontrollpflanzen erwiesen sich auch in diesem Versuche als pilzfrei.

Die Tatsache, daß schon am 12. August ein Blatt von *Polygonum Bistorta* (XXX 8) nur Teleutosporenlager trug, läßt sich auf zwei Arten erklären:

1. Annahme. Die Uredosporen konnten am genannten Blatte nicht mehr beobachtet werden, da der Versuch erst 19 Tage nach Auftragung der Aecidiosporen kontrolliert wurde, also zu einer Zeit, wo der Uredo schon verschwunden war. Dies setzt aber voraus, daß die Uredosporen nur kurze Zeit auf den Blättern von XXX 8 gelebt, und daß nach ihnen sogleich in den gleichen Lagern die Teleutosporen sich gebildet haben. Daraus würde nun hervorgehen, daß von einer Wiederholung des in diesem speziellen Falle nur kurze Zeit auf den Blättern von *Polygonum Bistorta* lebenden Uredos nicht die Rede sein kann.

2. Annahme. Das Mycelium, das sich aus den Aecidiosporen gebildet hat, entwickelte sogleich Teleutosporen, übersprang also den Uredo. Welche von diesen zwei Auffassungen die richtige ist, und ob vielleicht nicht beide Entstehungsweisen zugelassen werden können, kann natürlich nicht entschieden werden, da der Versuch zu spät kontrolliert wurde. Jedenfalls hängt die am ganzen Versuch beobachtete Erscheinung, daß die Teleutosporen schon frühzeitig auftreten, mit der kurzen Zeit zusammen, welche dieser in den Alpen sonst lebenden *Puccinia* zur Verfügung steht. Ich erinnere hier an den ähnlichen, wenn auch nicht ganz gleichen Fall, der uns früher entgegentrat bei Anlaß der Besprechung der *Puccinia athamanthina* Sydow.

Aus Versuch XXX ergibt sich, daß das *Aecidium Mei* Schroet. zu einer heteroecischen Art gehört, nämlich daß es genetisch verbunden ist mit *Puccinia mamillata* Schroet. auf *Polygonum Bistorta*.

Da ich aber beim „Vreneli“ keine *Polygonum Bistorta*, sondern nur *Polygonum viviparum* fand, so war zu vermuten, wie bereits bemerkt, daß auch diese *Polygonum*-Art als Teleutosporen-Nährpflanze dieser neuen heteroecischen Art in Frage komme. Die folgenden Versuche werden nun den Beweis dafür geben.

XXXI. Infektionsversuch mit Teleutosporen der *Puccinia mamillata* Schroet., von *Polygonum viviparum* stammend.

Im Herbst 1902 sammelte ich bei den Gessi (Kt. Graubünden) auf *Polygonum viviparum* Teleutosporen vom Typus der *Puccinia mamillata* Schroet. Damit leitete ich am 1. Mai 1903 einen Infektionsversuch mit folgenden Nährpflanzen ein:

- | | |
|------------------------------------|--|
| XXXI 1. <i>Meum Mutellina</i> | } im Berner botanischen Garten kultiviert. |
| XXXI 2. „ „ „ | |
| XXXI 3. <i>Angelica silvestris</i> | } im Juli 1902 bei Rubigen ausgegraben und eingetopft. |
| XXXI 4. „ „ „ | |
| XXXI 5. <i>Carum Carvi</i> | } im Berner botanischen Garten kultiviert. |
| XXXI 6. „ „ „ | |

Am 22. Mai wurden die Versuchspflanzen kontrolliert. Das Ergebnis der Durchsicht ist folgendes:

XXXI 1 (*Meum Mutellina*): Pflanze pilzfrei.

XXXI 2 (*Meum Mutellina*): Pflanze trägt an einigen Blattabschnitten junge Pyknidengruppen.

XXXI 3—XXXI 6 (*Angelica* und *Carum*): Pflanzen pilzfrei.

Am 27. Mai trug *Meum Mutellina* (XXXI 1) an zahlreichen Blattabschnitten und an einigen Blattstielen Pyknidengruppen und vereinzelt Pykniden. *Meum Mut.* (XXXI 2) wies ebenfalls an einigen Blattabschnitten Pyknidengruppen auf. Am 1. Juni waren an beiden Exemplaren von *Meum* junge Aecidien vom Typus des *Aecidium Mei Schroet.* bemerkbar, die am 4. Juni ihre völlige Reife erlangten. Die Versuchspflanzen *Angelica* und *Carum*, sowie die sämtlichen Kontrollpflanzen zu dieser Versuchsreihe blieben während der ganzen Versuchsdauer pilzfrei. Versuch XXXI bestätigt die Vermutung, ausgesprochen im vorigen Versuche, wonach *Aecidium Mei Schroet.* genetisch verbunden ist mit der *Puccinia mamillata* *Schroet.* auf *Polygonum viviparum*. Der negative Erfolg auf *Angelica silvestris* scheint zeigen zu wollen, daß *Aecidium Mei Schroet.* nicht identisch ist mit *Aecidium Bubáki* *anum Juel.*

Die auf *Meum* erzielten Aecidiosporen wurden zu einem weiteren Infektionsversuch verwendet, der uns völligen Aufschluß verschaffte über die Nährpflanzen, die in den Entwicklungskreis des *Aecidium Mei Schroet.*, resp. der betreffenden heteroecischen Art fallen.

XXXII. Infektionsversuch mit Aecidiosporen von *Aecidium Mei Schroet.*, von *Meum Mutellina* stammend.

Die im vorigen Versuche gewonnenen Aecidiosporen wurden am 5. Juni auf folgende Versuchspflanzen ausgesät:

XXXII 1. <i>Polygonum Bistorta</i>	} im Berner botan. Garten kultiviert.
XXXII 2. " "	
XXXII 3. " <i>viviparum</i>	
XXXII 4. " "	
XXXII 5. <i>Meum Mutellina</i>	

Am 23. Juni trat zum ersten Male eine Infektion auf. *Polyg. vivip.* (XXXII 3) trug an 3 Blättern junge Teleutosporen. *Polyg. vivip.* (XXXII 4) besaß an 2 Blättern Uredo- und Teleutosporenlager, an einem anderen Blatt hingegen nur Teleutosporenlager. *Polyg. Bistorta* und *Meum Mutellina* erwiesen sich als pilzfrei. Am 29. Juni wurde auch an *Polyg. Bistorta* eine Infektion bemerkt. Das Resultat der Durchsicht ist folgendes:

XXXII 1 (*Polyg. Bistorta*): An mehreren Blättern Uredo- und Teleutosporen.

XXXII 2 (*Polyg. Bistorta*): An einem Blatt bloß Teleutosporen, an einem anderen bloß Uredosporen.

XXXII 3 (*Polyg. vivip.*): Einige Blätter Uredo- und Teleutosporen, andere hingen nur Teleutosporen.

XXXII 4 (Polyg. vivip.): Einige Blätter Uredo- und Teleutosporen, andere hingegen zum Teil nur Uredo-, zum Teil nur Teleutosporen.

Meum Mutellina, sowie Kontrollpflanzen pilzfrei.

Am gleichen Tage wurde konstatiert, daß die auf Polyg. Bistorta und vivip. erzielten Teleutosporen zum Typus der *Puccinia mamillata* Schroet. gehören. Betrachten wir die Ergebnisse dieser zwei Kontrollen und bedenken wir dabei, daß vor dem 23. Juni sämtliche Pflanzen pilzfrei waren, so ergibt sich, daß in diesem Versuche ein Teil der Teleutosporen sich direkt aus den Aecidiosporen durch Uebersprungung des Uredos gebildet haben. Dies gilt mit Sicherheit vor allem für die am 23. Juni auf Polyg. vivip. (XXXII 1) beobachteten Teleutosporen.

Versuch XXXII zeigt sehr klar, daß die Sporen des *Aecidium Mei Schroet.* auf *Polygonum viviparum* und auf *Polygonum Bistorta* die Bildung der *Puccinia mamillata* Schroet. veranlassen. Mit anderen Worten, es beweist uns, daß das *Aecidium Mei Schroet.* genetisch verbunden ist mit der *Puccinia mamillata* Schroet. auf *Polygonum Bistorta* und auf *Polygonum viviparum*.

Das Resultat und die Vermutung des Jahres 1902 wurden also durch die diesjährigen Versuche völlig bestätigt.

Aecidium Mei Schroet. und *Puccinia mamillata* Schroet. fallen demnach in den Entwicklungskreis einer und derselben heteroecischen *Puccinia*, für die ich die Bezeichnung *Mei-mamillata* gewählt habe.

Tabelle zu den Infektionsversuchen XXX—XXXII.

Versuchspflanze	Infektionsmaterial und Versuchsnummer		
	XXX	XXXI	XXXII
	Aecidiosporen v. <i>Meum Mutellina</i>	Teleutosporen v. <i>Polyg. viviparum</i>	Aecidiosporen v. <i>Meum Mutellina</i>
<i>Meum Mutellina</i>	—	+	—
<i>Angelica silvestris</i>		—	
<i>Carum Carvi</i>		—	
<i>Polygonum Bistorta</i>	+		+
„ <i>viviparum</i>	×		+

Erklärung der Zeichen: + = positiver Erfolg; — = negativer Erfolg; × = alle Pflanzen verwelkt.

Es bleibt nur noch die Frage zu erörtern, wie sich das *Aecidium Bubákianum* Juel, resp. die mit ihm im Zusammenhange stehenden Uredo- und Teleutosporen, die ebenfalls zum Typus der *Puccinia mamillata* Schroet. gehören, zur *Puccinia Mei-mamillata* Sem. verhalten.

Bubák (I, p. 7)¹⁾ erblickt nämlich in *Puccinia mamillata*

1) Bubák, Ueber einige Umbelliferen bewohnende Puccinien. (Separat-abdr. a. d. Sitzungsber. d. kgl. böhm. Gesellsch. d. Wissensch. in Prag. Bd. I. 1900. p. 7.)

Schroet. zwei Formen, eine montane und eine Talform. Er vermutet, daß zu der ersteren *Aecidium Mei Schroet.*, zur letzteren *Aecidium Bubákianum* Juel gehört. Meine Versuche haben nun den ersten Teil seiner Vermutung bewiesen, Berichte von Juel (Bubák, II, p. 2)¹⁾ bestätigen den zweiten. Aus meinen Experimenten ergibt sich außerdem, daß *Aecidium Bubákianum* Juel nicht identisch sein kann mit *Aecidium Mei Schroet.*, da Teleutosporen von der montanen Form der *P. mamillata* Schroet. *Angelica silvestris* nicht befielen.

Aus dem Gesagten geht hervor, in Bestätigung der Auffassung Bubáks, daß *Puccinia mamillata* Schroet. wirklich in zwei Formen zerfällt.

Die morphologischen Unterschiede derselben zu ermitteln, war nun der Zweck der untenstehenden Untersuchungen. Das Material, auf das sich meine Beobachtungen bezogen, habe ich in folgender Tabelle zusammengestellt:

1) Uredo- und Teleutosporen von *Puccinia mamillata* Schroet. mit *Aecidium Mei Schroet.* genetisch verbunden, resp. in dessen Gesellschaft gefunden.

Material von meinen Versuchen (XXX—XXXII) auf beiden *Polygonum*-Arten, resp. im Versuch XXXI nur auf *Polygonum Bistorta*.

Material auf *Polygonum viviparum* gesammelt von mir im August 1902 bei den Gessi (Kanton Graubünden).

Material auf *Polygonum Bistorta* gesammelt von Bubák am Gipfel des Glatzer Schneeberges in Böhmen, 18. August 1900.

Material auf *Polygonum Bistorta* gesammelt von Bubák an der Brünnelheide in Schlesien, 26. September 1897.

2) Uredo- und Teleutosporen von *Puccinia mamillata* Schroet. in Gesellschaft des *Aecidiums Bubákianum* Juel gefunden.

Material auf *Polygonum Bistorta* gesammelt von J. J. Lindroth bei Karelia Olonetsensis, Finnland, 14. August 1898.

Material auf *Polygonum Bistorta* gesammelt von J. J. Lindroth in Rußland, 17. Juni 1899.

Material auf *Polygonum Bistorta* gesammelt von Sydow (Herb. Ed. Fischer) bei Krakau in Polen.

Den Herren Fr. Bubák und J. J. Lindroth spreche ich an dieser Stelle meinen besten Dank aus für das während der Untersuchung mir gütigst zur Verfügung gestellte Pilzmaterial. Meine Beobachtungen haben nun ergeben, daß der Unterschied der zwei Formen vor allem in der Lage des Keimporus der unteren Teleutosporenzelle liegt. Während bei *Puccinia Mei-mamillata* Sem. der untere Keimporus gewöhnlich im zweiten Drittel der Zelle vorkommt, so treffen wir ihn bei *Puccinia Angelicae-mamillata* stets in der Nähe

1) Bubák, Ein kleiner Beitrag zur Pilzflora von Tirol. (Oesterr. botan. Zeitschr. 1899. Sep. p. 2.)

des Stieles, nie aber im zweiten Drittel. Weitere Abweichungen, wenn auch nicht in allen Proben so scharf hervortretend wie die vorige, beobachtet man ferner in der Gestalt der Teleutosporen. Die erste Form weist nämlich Teleutosporen auf, die ellipsoidisch an beiden Seiten abgerundet sind. Eine Ausnahme bildet allerdings das Material, das ich 1902 an den Gessi, Kanton Graubünden, sammelte, welches Sporen von unregelmäßiger, eckiger Gestalt und dünnerer Membran als die vorigen enthält. Die Teleutosporen der zweiten Form hingegen sind der Mehrzahl nach unregelmäßig und eckig, stimmen also mit letzteren überein. In ihrer Membrandicke aber unterscheiden sie sich von den Sporen der ersten Form nicht. Demnach scheint ein weiterer Unterschied zwischen den zwei Formen auch in der Gestalt der Teleutosporen zu liegen, insofern als die Sporen der ersten Form vorwiegend ellipsoidisch, beidseitig abgerundet, die der zweiten Form hingegen der Mehrzahl nach unregelmäßig und eckig zu sein scheinen. Volle Klarheit in diesem speziellen Punkte dürfte hingegen erst nach erfolgten weiteren Untersuchungen in dieser Richtung erwartet werden. In diesem Sinne möchte ich auch einer ferneren und letzten Schwankung gedenken, die sich auf die Membran der Uredosporen bezieht. Nach meinen Beobachtungen scheinen nämlich die Uredosporen der ersten Form eine dickere Membran zu besitzen als die der zweiten. Außerdem stellt sich der Warzenabstand der ersteren kleiner heraus als der der letzteren. Im folgenden gebe ich nun eine Zusammenstellung der wichtigsten Merkmale dieser zwei Formen, so wie sie sich während der Untersuchung des mir vorliegenden Materials ergaben.

Beschreibung:

1. *Puccinia Mei-mamillata* Sem.

Uredolager rotbraun, auf der unteren Blattfläche zerstreut, auf meist verfärbten Stellen stehend. Uredosporen kugelig, ellipsoidisch, hie und da der Eiform sich nähernd, mit gelblich-brauner, bis $3,5 \mu$ dicker, gleichmäßig ausgebildeter Membran, die mit deutlich hervortretenden, $1,7-2,5 \mu$ voneinander entfernten Warzen und 4 Keimporen versehen ist (Fig. 2). Länge der Uredosporen

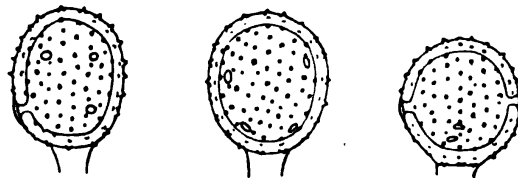


Fig. 2. Uredosporen von Pucc. Mei-mamillata Sem. Vergrößerung: ungefähr 650μ .

$21-26 \mu$, Breite derselben $19-22 \mu$. Teleutosporenlager denjenigen der Uredo gleich. Teleutosporen vorwiegend ellipsoidisch, beidseitig abgerundet oder untere Zelle nach unten verjüngt, selten

oblong, unregelmäßig und eckig, in der Mitte nicht oder kaum eingeschnürt (Fig. 3).

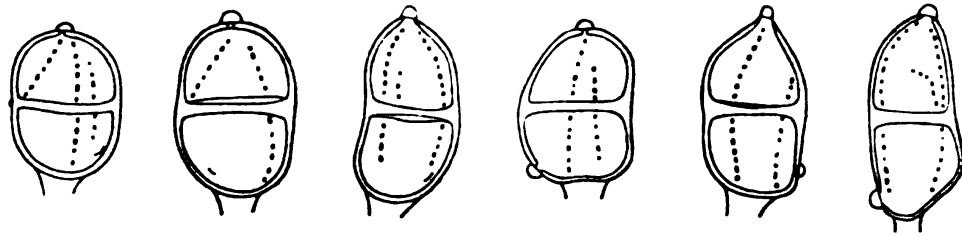


Fig. 3. Teleutosporen von Pucc. Mei-mamillata Sem. Vergrößerung: ungefähr 650 μ .

Keimporus der oberen Zelle scheitelständig, derjenige der Basalzelle gewöhnlich im zweiten Drittel, selten in unmittelbarer Nähe des Stieles. Membran dunkelbraun, mit in Reihen stehenden Warzen versehen. Keimporuspapille stark hervortretend, von konischer Gestalt. Länge der Sporen 24–35 μ , Breite derselben 17–21 μ .

2. Puccinia Angelicae-mamillata.

Uredolager denjenigen der vorigen Form gleich. Uredosporen kugelig, ellipsoidisch, hie und da der Eiform sich nähernd, mit gelblichen, bis 2,5 μ dicker, gleichmäßig ausgebildeter Membran, die mit deutlich hervortretenden, 2,4–3,5 μ voneinander entfernten Warzen und 4 Keimporen versehen ist (Fig. 4). Länge der Uredosporen 10–26 μ , Breite derselben 19–24 μ . Teleutosporen denjenigen der Uredo gleich. Teleutosporen vorwiegend oblong,

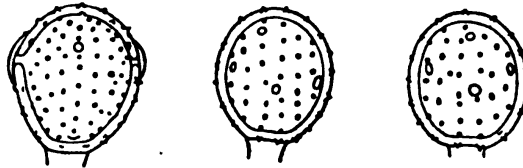


Fig. 4. Uredosporen von Pucc. Angelicae-mamillata. Vergrößerung: ungefähr 650 μ .

unregelmäßig, eckig, selten ellipsoidisch und an beiden Enden abgerundet, in der Mitte nicht oder kaum eingeschnürt (Fig. 5).

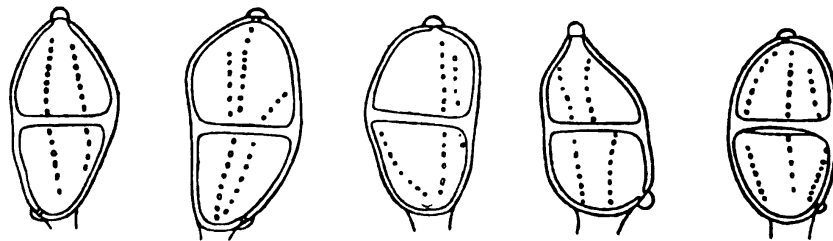


Fig. 5. Teleutosporen von Pucc. Angelicae-mamillata. Vergrößerung: ungefähr 650 μ .

Keimporus der oberen Zelle scheitelständig, derjenige der Basalzelle in unmittelbarer Nähe des Stieles gelegen. Membran dunkelbraun, mit in Reihen stehenden Warzen versehen. Keimporuspapille stark hervortretend, von konischer Gestalt. Länge der Teleutosporen 24—42 μ , Breite derselben 17—21 μ .

Nachdruck verboten.

Eine neue Methode zur Ueberprüfung von Desinfektionsmitteln gegenüber Mikroorganismen.

Von Dr. Heinrich Zikes.

[Aus dem physiologischen Laboratorium der österreichischen
Versuchsstation für Brauindustrie in Wien.

(Vorsteher Dr. Wichmann).]

Unter Zusatz gewisser fester Stoffe, wie Tonerdehydrat, kohlensaurer Kalk etc., lassen sich bekanntlich Mikroorganismen leicht und fast vollständig durch Auszentrifugieren aus einem flüssigen Medium abscheiden. Verf. benützte diese Methode bei der Untersuchung von Desinfektionsmitteln. Als Fällungsmittel wurde Talk- oder Specksteinpulver in Verwendung genommen, da dieses Silikat einerseits außerordentlich widerstandsfähig gegen den Angriff der verschiedensten Agentien ist, andererseits infolge seines niederen spezifischen Gewichtes nur allmählich in einer Flüssigkeit sedimentiert, so daß die einzelnen Teilchen desselben genügend Zeit haben, fast alle in der Flüssigkeit vorhandenen Keime mit niederzureißen. Dabei zeichnet es sich durch die Eigenschaft aus, auf wässrige Lösungen nur in geringem Maße adhärierend zu wirken, so daß Mikroorganismen leicht und vollständig bei einer folgenden Aufschlemmung von demselben getrennt werden können.

Als Schleudergefäß dient eine mit Glasstöpsel versehene Eproutette, welche aus zwei Teilen zusammengesetzt ist, dem eigentlichen von der Oeffnung aus verjüngten Eproutettenkörper und einer verhältnismäßig engeren Glaskapsel, welche das Ende der Eproutette darstellt und mittelst eines Kautschukschlauches an ersterem befestigt werden kann. In dieser Kapsel wird das ausgeschleuderte Sediment bei Trennung der beiden Eproutettenteile zurückgehalten.

Die Art der Untersuchung ist einfach:

Man stellt sich zuerst eine möglichst kräftige Generation der Organismen in dem für ihr Gedeihen günstigsten Nährmedium her, bringt diese Kultur in eine der beschriebenen Eproutetten, welche vorher sterilisiert wurde, setzt steriles Talkpulver in geringer Menge zu, schüttelt gut durch und zentrifugiert. Das kleine, den Bodensatz enthaltende Ansatzstück wird hierauf an eine zweite solche sterile Eproutette befestigt. Diese füllt man mit sterilem Wasser, falls die Einwirkung eines Antiseptikums in wässriger Suspension der Organismen studiert werden soll, schüttelt gut durch und zentrifugiert neuerdings.

Hierauf wird der untere Teil der Eprouvette wieder abgezogen, an eine dritte Eprouvette gesteckt und diese mit der Desinfektionsflüssigkeit beschickt. Nach neuerlichem wiederholten kräftigen Umschütteln läßt man das Antiseptikum eine gewisse Zeit (5–30 Minuten) einwirken. Hierauf wird wieder ausgeschleudert, dann der Bodensatz in einer vierten Eprouvette mit sterilem Wasser gewaschen und endlich in einen für die zu überprüfenden Organismen möglichst günstigen Nährboden gebracht. Will man das Verhalten des Antiseptikums in dem Nährmedium selbst, z. B. Bouillon, Hefewasser, überprüfen, so setzt man das Desinficiens in entsprechenden Verhältnissen diesem zu, schleudert in der geschilderten Weise nach einer bestimmten Zeit aus und verfährt dann in gleicher Weise weiter, wie mitgeteilt.

Die Oberflächenanziehung des Talkpulvers auf die verschiedenartigsten Desinfektionsmittel wurde überprüft und als verschwindend klein erkannt, so daß sie bei vorliegendem Verfahren fast nicht in Frage kommt.

Die Vorteile der Methode lassen sich in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1) Das Desinfektionsmittel kann sowohl auf die wässerige Aufschlemmung der Organismen wie direkt auf die Kultur derselben in einwandfreier Weise durch eine bestimmte Zeit einwirken.

2) Die überprüften Keime können nahezu in ihrer Gesamtmenge wieder in die Kulturflüssigkeit zur weiteren Untersuchung gebracht werden.

3) Es ist möglich, die überprüften Keime von dem Desinficiens vollständig zu befreien, denn es liegt in der Hand des Versuchsanstellers, die Keime nach der Behandlung mit dem Antisepticum beliebig oft mit Wasser auszuwaschen.

4) Die Methode läßt bei einiger Vorsicht und einer gewissen Raschheit während der einzelnen Manipulationen ein vollständig steriles Arbeiten zu.

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Jensen, Orla, Studien über die flüchtigen Fettsäuren im Käse nebst Beiträgen zur Biologie der Käsefermente. (Forts.), p. 514.

Kostytschew, S., Untersuchungen über die Atmung und alkoholische Gärung der Mucoraceen, p. 490.

Otto, Moritz und **Neumann, E. O.**, Ueber einige bakteriologische Wasseruntersuchungen im Atlantischen Ozean, p. 481.

Modella, Antonio, Ueber die in der normalen Milch vorkommenden Anaerobien und ihre Beziehungen zum Käsereifungsprozesse, p. 504.

Semadeni, Franc. Ottavio, Beiträge zur Kenntnis der Umbelliferen bewohnenden Puccinien. (Schluß), p. 527.

Zikes, Heinrich, Eine neue Methode zur Ueberprüfung von Desinfektionsmitteln gegenüber Mikroorganismen, p. 543.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädensweil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D.C., U.S.A., Prof.
Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr.
Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W.50, Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XIII. Band.

Jena, den 18. November 1904.

No. 18.

**Originalreferate aus bakteriologischen u. gärungsphysiologi-
schen etc. Instituten, Laboratorien etc.**

Nachdruck verboten.

Aus der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München.

**Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen
Arten von Bierhefe¹⁾.**

Von **H. Will.**

VI. Wachstumsform der vier Hefen auf festen Nährböden.

(Schluß.)

Fassen wir die sämtlichen Beobachtungen zusammen, so ergibt sich, daß bei Anwendung von 4 Proz. Agar bzw. 2 Proz. Agar mit 3 Proz. Gelatine gegenüber der Wachstumsform und dem Aufbau auf 10-proz. Würzelgelatine bei den Riesenkolonien kein prin-

1) Nach Mitteilungen der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München. Zeitschr. ges. Brauwesen. Bd. XXVII. 1904. No. 32—38. p. 376—379, 587—590, 607—609, 620—622, 636—637, 654—658, 669—674. Vergl. d. Centralbl. Bd. I. 1895. p. 449; Bd. II. 1896. p. 752; Bd. V. 1899. p. 726; Bd. IX. 1902. p. 135; Bd. XII. 1904. p. 294.

zipieller, sondern nur ein gradueller Unterschied besteht. Wir gelangen zu der Auffassung, daß wir es bei den vorliegenden Riesenkolonien mit lange in den ersten Entwicklungsstadien, im Jugendstadium verharrenden zu tun haben, einem Entwicklungsstadium, wie es der zentralen Partie der mit scharf ausgeprägter Wachstumsform, mit starker Strombildung typisch entwickelten Riesenkolonien entspricht.

D. Wachstumsform der Riesenkolonien auf 10-proz. Biergelatine.

Wie bekannt, entwickeln sich die Kahlhautgenerationen auf gehopfter Bierwürze, nachdem die Hauptgärung beendet ist.

Nach meinen früheren Darlegungen verläuft die Kahlhautbildung in zwei Phasen. Zunächst entstehen kleine ovale und wurstförmige Zellen, welche ich als die 1. Generation der „echten Kahlhautzellen“ bezeichnet habe. Die zweite Phase ist durch das Auftreten derber, wurstförmiger, oft ungemein langgestreckter Zellen, welche aus den Dauerzellen hervorsprossen, gekennzeichnet. Ich habe diese Zellen als Kahlhautzellen 2. Generation bezeichnet.

Aus allen Erscheinungen alter Kahlhautkulturen darf man den Schluß ziehen, daß die vergorene Bierwürze, welche im Laufe der Zeit allerdings auch die Umsetzungsprodukte der durch Autolyse zerfallenden und der abgestorbenen Hefezellen aufnimmt, den Anforderungen, welche die Kahlhautgenerationen hinsichtlich Ernährung stellen, vollauf genügt. Durch einen speziellen Versuch habe ich mich auch davon überzeugt, daß nach verschiedenen Zeiten (vom Beginn der Kahlhautentwicklung an) den Kulturen entnommene vergorene Würze nach der Sterilisation zur Weiterentwicklung auf dieselbe übertragener Kahlhautelemente auch vollständig geeignet ist.

Wenn also hierdurch erwiesen ist, daß sich vergorene, gehopfte Bierwürze unter allen Umständen unter den übrigen erforderlichen Bedingungen zur Entwicklung aller Kahlhautgenerationen völlig eignet, so hätte man erwarten können, daß sich bei Uebertragung von Bodensatzhefe aus Würzekulturen unmittelbar nach der Hauptgärung auf vergorene Würze, welche einen Zusatz von 10 Proz. Gelatine erhalten hatte, in gleicher Weise wie auf 10-proz. Würzegelatine alle Kahlhautgenerationen zur Ausbildung gelangt wären, daß also auf diesem Substrat Riesenkolonien hätten herangezogen werden können, welche den auf 10-proz. Würzegelatine ähnlich, vielleicht in der Wuchsform noch reiner gewesen wären. Diese Voraussetzung traf nicht zu.

Die bei den umfangreichen Versuchen zur Herstellung der Biergelatine verwendete vergorene Würze hatte einerseits ein verschiedenes Alter, andererseits einen verschiedenen Ursprung.

Wenn wir die wesentlichsten und allen vier Hefen gemeinschaftlichen Züge der Entwicklung der Riesenkolonien auf Gelatine mit vergorener Würze als Nährboden zusammenfassen, so bleiben dieselben lange Zeit ohne irgendwelche charakteristische Formgestaltung. Erst nach durchschnittlich einem Monate treten, und zwar bei Stamm 2, 6 und 93 gekröse- oder mycodermaähnliche

Faltungen auf. Dieser Faltenbildung geht zuweilen deutlich sichtbar die Entstehung von „kraterförmigen“ Vertiefungen voraus, deren aufgewulstete Ränder dann den Ausgangspunkt der Faltungen bilden.

Es treten also an den Riesenkolonien auf Biergelatine in einem späteren Entwicklungsstadium derselben genau die gleichen Erscheinungen auf, wie wir sie in den späteren Entwicklungsstadien der Riesenkolonien auf Würzelgelatine und Würzeagar getroffen haben, und welche wir später bei den Riesenkolonien der Kahmhautzellen 2. Generation kennen lernen werden.

Eine ungemein interessante, bisher bei den vorliegenden Hefen niemals wieder beobachtete Erscheinung¹⁾ trat an einer Riesenkolonie von Stamm 2 auf Biergelatine Stamm 7 bei Zimmertemperatur in vorzüglicher Ausbildung auf. Neben den gekröseartigen Faltungen erschien die Oberfläche derselben wie behaart oder mit Zotten besetzt, indem in großer Anzahl haar- oder besser zottenförmige Gebilde frei in die Luft ragten; ihre Höhe betrug in der Regel unter 1 mm. Sie standen oft in Büscheln beisammen, und zwar überall, auch auf der Oberfläche der Faltungen.

Diese Zotten stellten nach der mikroskopischen Untersuchung im allgemeinen kegelförmige Gebilde dar, welche aus Sproßverbänden wurstförmiger Zellen zusammengesetzt waren. Letztere boten gegenüber den überhaupt in der Kolonie vorhandenen nichts Auffälliges oder Unterscheidendes.

Fassen wir die sämtlichen an den Riesenkolonien der vier Hefen auf Biergelatine gemachten Beobachtungen zusammen und suchen wir deren Erscheinungsform im Zusammenhang mit derjenigen auf Würzelgelatine zu begreifen, so ergibt sich die Anschauung, daß bei der Aussaat von Bodensatzhefe auf Biergelatine unter den gegebenen Verhältnissen die erste Phase der Entwicklung der Riesenkolonien bzw. der Kahmhäute (der Kahmhautzellen 1. Generation) überhaupt übersprungen wird oder deshalb nicht zur Geltung kommt, weil die eigentlichen formbildenden Elemente der Kahmhautzellen 1. Generation fehlen oder nur in geringem Maße und sehr spät zur Ausbildung gelangen. Dagegen tritt bei den Riesenkolonien auf Biergelatine die zweite Phase der Entwicklung (Kahmhautzellen 2. Generation), welche in der Faltung und Kräuselung der Oberfläche meist mit vorausgehender Kraterbildung einen äußerlichen Ausdruck gewinnt und bei den Riesenkolonien auf Würzelgelatine und Würzeagar meist nur in sehr geringem Umfang zur Ausbildung gelangt, in den Vordergrund.

Hier wie dort scheinen für die Verschiebungen der beiden Entwicklungsphasen wesentlich spezielle Ernährungsverhältnisse und die verschiedene Neigung der ursprünglich vorhandenen und in den ersten Entwicklungsstadien neu entstehenden, rundlichen und ovalen Zellen zur Erzeugung einer Generation gestreckter Zellen von maßgebendem Einfluß zu sein.

Diese Erscheinungen erschweren aber den Vergleich der Riesenkolonien mit den Kahmhautbildungen; immerhin sehen wir

1) Bei anderen Hefen, sowie bei gewissen *Torula*-ähnlichen Organismen habe ich dieselbe wiederholt beobachtet.

auch hier, wenn auch in einseitiger Richtung, die gleichen Verhältnisse wie dort wiederkehren.

Daß die vorgetragene Anschauung sehr viel Wahrscheinlichkeit hat, dafür geben die Riesenkolonien von Stamm 7 aus den Kahmhautzellen 1. Generation einen Fingerzeig. Sind wie dort die formgebenden Zellelemente schon bei der Aussaat der Reinkulturen vorhanden, brauchen sie sich also nicht erst aus den auf die Nährgelatine aufgetragenen Zellelementen zu entwickeln, so kommt es zunächst zur deutlichen Strombildung und zur Ausbildung der rhizoidenartigen Anhänge und schließlich auch noch zur zweiten Entwicklungsphase, der lokalen charakteristischen Kräuselung der Oberfläche.

Wenn wir uns die Beobachtungen über das Auswachsen der Einzelkolonien ins Gedächtnis zurückrufen, so erscheint das Ueberspringen bzw. das Ausbleiben der einen oder der anderen Entwicklungsphase der Riesenkolonien durchaus nicht auffällig.

E. Wachstumsform der Kolonien auf 10-proz. saurer Bouillonpeptongelatine.

Die Wachstumsform blieb bei allen Temperaturen bei möglichst lang ausgedehnter Beobachtung (bei 10—11° C bis zu 4 Monaten) ohne irgendwelches charakteristisches Gepräge.

Die saure Bouillonpeptongelatine ist anscheinend weder für die Vermehrung der Einsaat der Bodensatzhefe oder der Gärungsform ein günstiger Nährboden, noch auch für die Entwicklung der Kahmhautgenerationen. Wenn auch kein sicherer Beweis dafür erbracht werden kann, daß die insbesondere in den Kolonien von Stamm 7 so reichlich vorhandenen kleinen ovalen und rundlichen zarteren Zellen mit homogenem Inhalt bereits den Kahmhautgenerationen angehören, so wird man doch kaum in dieser Annahme fehlgehen.

Da aber nach der ganzen durchgeführten Darlegung in erster Linie die Kahmhautgenerationen den Riesenkolonien das charakteristische Gepräge verleihen, so mußten letztere auf saurer Bouillongelatine bei dem geringen Wachstum überhaupt und der relativ geringen Entwicklung der Kahmhautgenerationen im besonderen bis zur Verflüssigung der Gelatine und damit zum Untergang der in sich geschlossenen Kolonien ohne eine besondere Wachstumsform bleiben.

II. Die Wachstumsform der Riesenkolonien bei Aussaat von Kahmhautzellen 1. Generation.

A. Wachstumsform der Riesenkolonien auf 10-proz. Würzegelatine.

Wenn die bis jetzt gewonnenen Anschauungen über das Wesen der aus der Bodensatzhefe, der Alkoholgärungsform, auf 10-proz. Würzegelatine hervorgegangenen Riesenkolonien richtig sind, nämlich daß die Bodensatzhefe im Verlauf der zwei Entwicklungsphasen wie in den Kahmhäuten auf Nährflüssigkeiten zunächst wesentlich Kahmhautzellen 1. Generation und deren Mycelform hervorbringt, so darf die gleiche Wachstumsform der Riesenkolonien

wie dort bei direkter Aussaat von Kahlhautzellen 1. Generation auf Würzelatine erwartet werden. In der Tat ist dies der Fall.

Für Stamm 2 und 93 gilt dies ohne irgendwelche Einschränkung, für Stamm 6 und 7 mit gewissen Modifikationen. Diese Modifikationen sind nicht prinzipielle, sondern nur graduelle.

Die Variation der Wachstumsform, welche wir schon bei den Riesenkolonien aus Bodensatzhefe kennen gelernt haben, ist bei den Riesenkolonien aus Kahlhautzellen 1. Generation viel häufiger und regelmäßiger als bei der Bodensatzhefe; sie bewegt sich jedoch nur innerhalb der Formen, wie sie auch bei den Riesenkolonien aus Bodensatzhefe auftreten, ist jedoch noch schärfer ausgeprägt.

Die gleiche Art der Variation erscheint unter gleichbleibenden Bedingungen bei der gleichen Kultur meist immer wieder, wenn auch in wechselndem Grade.

Durch Ueberführung der Kahlhautzellen 1. Generation in die Gärungsform und die Festigung der letzteren werden die Variationserscheinungen geringer und geht die anfangs abweichende Wachstumsform mehr und mehr in diejenige über, welche die gewöhnliche Bodensatzhefe erzeugt.

Im Anfange der Entwicklung der Riesenkolonien vorhandene graduelle Unterschiede in der Wachstumsform können im weiteren Verlaufe vollständig verwischt werden.

Am häufigsten und umfangreichsten findet sich eine Variation in der Wachstumsform bei Stamm 7, dann folgt Stamm 6.

In erster Linie macht sich die Variation hinsichtlich der Gliederung der Ströme geltend, dann hinsichtlich der Oberflächengestaltung.

Bei Stamm 6 fehlte die Kräuselung der Oberfläche oder sie trat sehr spät auf.

Welche Verhältnisse für die Entwicklung bzw. Nichtentwicklung oder das Zurückbleiben der die Falten der Kräuselung zusammensetzenden Zellen und damit für die Variation der Wachstumsform maßgebend sein können, wird später bei der Besprechung der gleichen Erscheinungen bei Stamm 7 erörtert werden. Soviel sei nur hier schon bemerkt, daß nach den später darzulegenden Versuchen offenbar diese Variationstendenz den Reinkulturen als solchen zukommt, um so mehr, da bei wiederholten Untersuchungen im wesentlichen immer wieder die gleichen Erscheinungen bei den gleichen Kulturen auftreten.

Bei Stamm 7 kommen die Variationen der Wachstumsform, insbesondere die Kräuselung der Oberfläche, welche bei den Riesenkolonien aus Bodensatzhefe selten auftreten, bei den Riesenkolonien aus Kahlhautzellen 1. Generation in viel höherem Grade ausgebildet vor.

Weiter ist die Strombildung viel schärfer ausgeprägt und gliedert als bei den Riesenkolonien aus Bodensatzhefe. Ein weiteres Charakteristikum der Riesenkolonien aus Kahlhautzellen 1. Generation von Stamm 7 ist, daß im Gegensatz zu den Riesenkolonien aus Bodensatzhefe die scharfe Ausbildung der Ströme und die reiche Gliederung derselben auch an den bei niederen Temperaturen (wenigstens bis zu 12° C) gewachsenen Riesenkolonien vorhanden ist.

Wenn die aus Bodensatzhefe hervorgehenden Riesenkolonien ebenfalls wesentlich aus Kahlhautzellen 1. Generation bestehen, so dürfte die Abweichung der Wachstumsform von derjenigen der Kolonien aus Kahlhautzellen 1. Generation in erster Linie darin zu suchen sein, daß hier letztere erst aus dem Aussaatmaterial entstehen müssen und daß sie bis zu einem gewissen Grade gemischt mit den Nachkommen des Aussaatmaterials bleiben, ferner daß, was von großer Bedeutung ist, auch gewisse Zellformen, insbesondere die wurstförmigen, nicht mehr oder nur schwer zur Entwicklung kommen.

Die Kräuselung war bei den vier untersuchten Reinkulturen und bei den verschiedenen Parallelversuchen in verschiedenem Maße ausgebildet.

Ein sehr wesentlicher Punkt, der, wie ich meine, die graduellen Abweichungen in der Wachstumsform der Riesenkolonien aus Kahlhautzellen 1. Generation auf die natürlichste Weise erklärt, scheint mir die folgende zu sein. Die in der ersten Phase der Kahlhautentwicklung auf Nährflüssigkeiten auftretenden Zellen, welche ich zu den Kahlhautzellen 1. Generation rechne, scheinen nicht gleichwertig zu sein. Ein Teil derselben wächst zu Sproßverbänden wurstförmiger Zellen aus, ein anderer Teil überhaupt nicht oder er besitzt diese Tendenz nur in geringem Grade. Wir finden ja auch in der Randpartie der Riesenkolonien ganz ähnliche Verhältnisse. Neben den Sproßverbänden wurstförmiger Zellen, welche das Mark der Ströme zusammensetzen, finden wir auch noch die bekannten kleinen, ovalen und rundlichen Zellen wie in den Kahlhäuten.

Bei der Reinkultur von Kahlhautzellen 1. Generation können diese individuellen Unterschiede in Beziehung auf die spätere Richtung der Formgestaltung der Nachkommen nicht erkannt werden. Daher kann es kommen, daß bei gleicher Form der Mutterzellen nach Abimpfung der Kolonien in die gleiche Nährlösung bei der einen Kultur in viel höherem Grade die Tendenz hervortritt, langgestreckte, wurstförmige Zellen zu entwickeln, bei der anderen weniger, bei einer dritten können solche Zellen überhaupt nicht zur Entwicklung kommen.

Die eingehenden Aufzeichnungen über die verschiedenen Zellformen in den verschiedenen Reinkulturen lassen diese Erscheinungen ganz unzweifelhaft erkennen.

Außerdem kommt noch die Anregung, welche die Nährlösung zur Entwicklung wurstförmiger Zellen gibt, die Neigung der einzelnen Zellen, bei veränderten physiologischen Funktionen eine andere Form anzunehmen, in Betracht.

Eine Vergleichung der Ausbildung der Randpartie der Riesenkolonien und der in den einzelnen Reinkulturen von Kahlhautzellen 1. Generation, aus deren Aussaat sie hervorgegangen, vorhandenen Zellen läßt aber wieder ganz unzweifelhaft den Zusammenhang zwischen der mehr oder minder charakteristischen Ausbildung der Randpartie der Riesenkolonien und der Menge der in dem Aussaatmaterial vorhandenen wurstförmigen Zellen oder zu der in höherem oder geringerem Grade ausgebildeten Tendenz zur Streckung der Zellen erkennen.

Es gilt dies sowohl für Stamm 7 wie für Stamm 6. Zu der üppigeren Entfaltung der Sproßverbände wurstförmiger Zellen bei Stamm 7 in den Riesenkolonien, die in der Kräuselung der Oberfläche der Ströme zum Ausdruck gelangt, tragen jedenfalls die Ernährungsverhältnisse auf der einen guten Nährboden darstellenden 10-proz. Würzegelatine wesentlich bei.

B. Wachstumsform der Riesenkolonien auf 10-proz. Biergelatine.

Die Riesenkolonien der Kahlhautzellen 1. Generation auf Biergelatine sind, wie die Beobachtungen in den verschiedenen wiederholten Versuchsreihen immer wieder ergaben, einerseits den auf den gleichen Nährgelatinen gewachsenen Riesenkolonien aus der gewöhnlichen Bodensatzhefe, der Gärungsform, sehr ähnlich, andererseits weisen sie jedoch so viele Uebergangsstufen zu den Riesenkolonien aus Bodensatzhefe auf 10-proz. Würzegelatine auf, ja sie werden denselben bei Stamm 7, abgesehen von der naturgemäß schwächeren Entwicklung, bis auf die gelappten Ströme völlig gleich. Diese vollständigen Reihen verschiedener Wachstumsformen mit ihrer wenigstens nach einer Richtung hin erkennbaren Ursache unterstützen aber die bisher vorgetragenen Anschauungen über den Aufbau der Riesenkolonien überhaupt und über die Zugehörigkeit der in den verschiedenen Entwicklungsphasen auftretenden Zellelemente zu den beiden Kahlhautgenerationen, sowie der durch dieselben bedingten Wachstumserscheinungen.

Die Wachstumsform wird sehr wesentlich in gleicher Weise wie bei den Riesenkolonien auf 10-proz. Würzegelatine durch die in dem Aussaatmaterial vorhandenen Zellelemente beeinflusst.

Am deutlichsten war das wieder, wie bei den Riesenkolonien auf 10-proz. Würzegelatine, bei Stamm 7 zu beobachten.

Die Riesenkolonien aus Kahlhautzellen 1. Generation auf Biergelatine zeigen in den Hauptzügen völlige Uebereinstimmung mit den Riesenkolonien auf Würzegelatine, mit den Riesenkolonien überhaupt, auch der anderen Hefen, insbesondere auch derjenigen der Gärungsform, und zwar um so mehr, je weniger durch Verflüssigung der Gelatine ihre Weiterentwicklung gehemmt wird.

Die beiden Phasen der Entwicklung, welche bei der Kahlhautbildung erkannt wurden und welche sich in so vorzüglicher Weise bei den Einzelkolonien verfolgen ließen, haben sich bisher auch bei allen, aus den verschiedenen Entwicklungs- und Anpassungsformen der vier Hefen auf den verschiedenen Nährböden gewachsenen Riesenkolonien zu erkennen gegeben.

Von Interesse ist jedenfalls, daß auch bei Aussaat von Kahlhautzellen 1. Generation die mycodermaähnlichen Faltungen und Kräuselungen auf der Oberfläche überhaupt zur Ausbildung gelangen und daß sie sich wie immer, so auch auf der Biergelatine sehr spät entwickeln.

Würden diese Faltungen, die in der Regel auch hier zuerst in den älteren Teilen der Riesenkolonien auftreten, aus den wurstförmigen Zellen der Einsaat entstehen, so wäre zunächst kein Grund einzusehen, warum die in dem Aussaatmaterial vorhandenen wurst-

förmigen Zellelemente, wie dies die Kahlhautzellen 2. Generation tatsächlich tun, nicht sehr bald zu einer ausgedehnten Faltenbildung auf der Oberfläche der Kolonien schreiten würden. In Wirklichkeit bilden dieselben die Ströme der Randpartie.

Hierin liegt aber wohl ein Hauptbeweis für die verschiedene Natur beider Zellelemente, der Kahlhautzellen 2. Generation und der wurstförmigen Zellen der Kahlhautzellen 1. Generation bzw. der in den Strömen und in den rhizoidenartigen Anhängen der Unterseite auftretenden langgestreckten Zellelemente. Letztere entstehen überall und sind von Anfang an überallhin in den Kolonien ausgebreitet, und zwar im Innern derselben. Diese Zellelemente streben dem Nährsubstrate zu. Charakteristisch für die derberen wurstförmigen Zellen der Kräuselung mit vorausgehender Kraterbildung ist dagegen, daß sie zunächst an lokal beschränkten Stellen entstehen und dann eine große Oberflächenentwicklung nach außen anstreben.

Wenn die beiden Entwicklungsphasen der Riesenkolonien auf Würzegeleatine, wie es bei denjenigen der Bodensatzhefe den Anschein gewinnen könnte, nur von einer durchgreifenden Veränderung, welche das Nährsubstrat durch die Zerlegung und den Verbrauch des Zuckers etwa erleidet, allein abhängig wären, so würden dieselben auf der Biergeleatine, welche jedenfalls im Verlauf der Entwicklung der Kolonien keine so wesentliche Veränderung hinsichtlich der zur Verfügung stehenden Nährstoffe erfahren dürfte, kaum zu verstehen sein.

So ungemein schwierig es wohl ist, die gleiche Gesetzmäßigkeit, welche die Entwicklung der Riesenkolonien auf 10-proz. Würzegeleatine beherrscht, in der Entwicklung der Riesenkolonien auf Biergeleatine und den gleichen Grundplan in dem Aufbau derselben wiederzuerkennen, so dürfte gleichwohl meiner Meinung nach unter Berücksichtigung aller bis jetzt vorliegenden Beobachtungen kaum ein Zweifel darüber bestehen, daß auch bei den Riesenkolonien aus Kahlhautzellen 1. Generation auf 10-proz. Biergeleatine der gleiche gemeinschaftliche Zug hindurchgeht. Allerdings gewinnt es ja manchmal äußerlich den Anschein, als ob einerseits die erste Phase der Entwicklung überhaupt ausbliebe, andererseits die zweite Phase der Entwicklung zuerst auftrete. Tatsächlich dürfte dies jedoch nicht der Fall sein. Wie bei den Riesenkolonien auf Würzeagar, ist eben hier die erste Phase der Entwicklung mehr oder weniger verwischt, hauptsächlich wohl dadurch, daß die formgebenden Zellelemente derselben anfangs nur spärlich entwickelt sind.

Aehnlich ist es auch auf Nährflüssigkeiten von nicht günstiger Zusammensetzung. Ebenso können in Kahlhäuten zur Ergänzung von entstandenen Lücken sehr spät wieder (nach dem Erscheinen der Kahlhautzellen 2. Generation) Kahlhautzellen 1. Generation auftreten.

Will, H. und Braun, R., Vergleichende Untersuchungen einiger in den letzten Jahren für den Brauereibetrieb empfohlenen Desinfektionsmittel. II. Mit-

teilung. (Zeitschr. ges. Brauwesen. Bd. XXVII. 1904. No. 29 — 31. p. 521.)

Verff. haben in Fortsetzung früherer Untersuchungen, welche H. Will an Antinonnin, Mikrosol, Antigermine, Afral, Mycelid, Antiformin und Avenarius Carbolinum ausgeführt hat (vergl. dieses Centralbl. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 875), noch das Montanin, das Fluorammonium und die technische Flußsäure geprüft. Die beiden letzteren haben schon seit längerer Zeit eine ausgedehnte Verwendung als Desinfektionsmittel im Brauereibetriebe gefunden, ersteres wird erst in jüngster Zeit allgemeiner in den Brauereibetrieb einzuführen versucht.

Das Montanin, welches von der Montan- und Industriegesellschaft in Strehla an der Elbe als ein Abfallprodukt der keramischen Industrie in den Handel gebracht wird, ist eine fast wasserhelle, leicht bewegliche, hellgrüne, sauer reagierende, geruchlose Flüssigkeit, deren wirksamer Bestandteil freie Kieselfluorwasserstoffsäure ist. Das verwendete Montanin enthielt im Durchschnitt von 3 Analysen 31 Gewichtsprocente Kieselfluorwasserstoffsäure.

Von Fluorsalzen wird das saure Fluorammonium (Bifluorat) techn. krist. (Matlsalz) als Desinfektionsmittel benützt. Das geprüfte Salz enthielt im Durchschnitt 30 Proz. an Fluorammonium gebundene Flußsäure, welche hauptsächlich bei der desinfizierenden Wirkung des sauren Salzes gegenüber dem einfachen Fluorammonium in Betracht kommt.

Die technische Flußsäure enthält 40—50 Proz. Säure. Um einen direkten Anschluß an die früher durchgeführten Untersuchungen zu gewinnen und die dort erhaltenen Ergebnisse mit den neu gewonnenen vergleichen zu können, wurde die gleiche Untersuchungsmethode benutzt, jedoch erfuhr letztere noch einige Erweiterungen ebenso wie auch die Prüfung der entwicklungshemmenden Kraft auf einige Schimmelpilze und Bakterien ausgedehnt wurde.

Nach der keimtötenden Kraft (geprüft an verschiedenen Hefenarten) ist die Reihenfolge der Desinfektionsmittel, von den schwächeren zu den stärkeren aufsteigend, folgende: Antinonnin, Mikrosol, Montanin, Antigermine, Fluorammonium, Flußsäure und Antiformin. Die Beurteilung des Montanins wird, abgesehen von anderem, dadurch günstig beeinflusst, daß die entwicklungshemmende Kraft gegenüber den Versuchshefen und Schimmelpilzen eine etwas größere als bei Fluorammonium ist.

Nach der entwicklungshemmenden Kraft (geprüft an den gleichen Hefenarten) ergibt sich folgende Reihe: Antiformin, Fluorammonium, Montanin, Antinonnin, Mikrosol, Antigermine und Flußsäure.

Die entwicklungshemmende Kraft gegenüber Schimmelpilzen wurde an einer Mucor- und Penicillium-Art, sowie an Oidium lactis, und zwar nach zwei verschiedenen Methoden geprüft. In der Versuchsreihe mit Würze kommt der Flußsäure die größte entwicklungshemmende Kraft zu (0,062—0,125 Proz.); dann folgt Montanin, dessen entwicklungshemmende Kraft ebenfalls noch eine sehr starke ist (0,25—1 Proz.), während bei dem Fluorammonium für zwei der Schimmelpilze die entwicklungs-

hemmende Kraft dieses schon eine sehr hohe ist (1,75—2 Proz.). Die Ergebnisse der unter Anwendung von Brotscheibchen durchgeführten Versuche stimmen mit den bei Einimpfung der Schimmelpilze in Würze erhaltenen nahezu überein.

Der geprüften *Sarcina* gegenüber besitzt das Montanin unter den gegebenen Bedingungen die geringste entwicklungshemmende Kraft, jedoch sind die Unterschiede gegenüber den beiden anderen Desinfektionsmitteln nicht sehr bedeutend. Gegenüber den geprüften Säurebakterien (in der Hauptsache Essigbakterien) verhalten sich jedoch Montanin und Fluorammonium völlig gleich.

Faßt man das Gesamtergebnis aus der Untersuchung der keimtötenden und entwicklungshemmenden Kraft bei den vorliegenden drei Desinfektionsmitteln zusammen, so ergibt sich, daß zwar allen die Flußsäure voransteht, gleichwohl aber Montanin und Fluorammonium noch als gute Desinfektionsmittel zu bezeichnen sind. Nach ihrer keimtötenden und entwicklungshemmenden Kraft stehen diese beiden etwa auf der gleichen Stufe.

Bei der Bewertung des Montanins als Desinfektionsmittel kommt neben der guten Desinfektionswirkung noch eine andere Eigenschaft wesentlich in Betracht, die es von allen anderen bisher im Gebrauch befindlichen unterscheidet und dasselbe ganz besonders zur Desinfektion von Wänden geeignet erscheinen läßt. Bestreicht man eine Wand mit Montanin, so wird dieselbe durch Ausscheidung von Kieselsäure, Flußspat und Tonerde geglättet und gehärtet. Feuchte und schimmelige Wände können daher durch Anwendung des Montanins trocken gelegt werden.

2—5-proz. Lösungen der drei Desinfektionsmittel dürften, wie bei den übrigen, für die Reinigung von Gerätschaften völlig genügend sein, zu Wandanstrichen sind jedoch höherprozentige notwendig.

Autoreferat.

Referate.

Keutner, Ueber das Vorkommen und die Verbreitung stickstoffbindender Bakterien im Meere. (Wissensch. Meeresunters. Abt. Kiel. N. F. Bd. VIII.)

Nach kurzer Würdigung der wichtigeren Arbeiten über Verbreitung und Eigenschaften der stickstoffbindenden Bakterien des Festlandes geht Verf. näher auf seine Forschungen über das Vorkommen solcher Organismen im Meere ein, wo ihre Anwesenheit durch ihn und Benecke zuerst festgestellt wurde. K. verwendete als Kulturflüssigkeiten stickstofffreie „elektive“ Nährsubstrate von bestimmter, dem speziellen Versuchszwecke angepaßter Zusammensetzung und ermittelte unter Berücksichtigung aller erforderlichen Kautelen den in diesen Nährlösungen erzielten Stickstoffgewinn. Nachdem sich herausgestellt hatte, daß *Azotobacter* vorwiegend auf größeren, Filtrierpapier nicht passierenden Organismen des Meerwassers vorkommt, hat Verf. sein Augenmerk auf den Nachweis stickstoffbindender Bakterien am Meeresgrunde, an festgewachsenen Algen und an Organismen des Planktons gerichtet. Die hierbei erzielten Ergebnisse faßt er selbst wie folgt zusammen:

1) Stickstoffbindende Bakterien, deren Vorkommen auf dem Festlande seit 20 Jahren bekannt ist, sind auch als regelmäßige Bewohner der Meere zu bezeichnen.

2) Die im Meere vorkommenden Formen konnten mit den auf dem Festlande nachgewiesenen *Azotobacter chroococcum* Beijerinck und *Clostridium Pasteurianum* Winogradsky identifiziert werden. Die morphologischen und physiologischen Eigenschaften derselben stimmten im wesentlichen überein mit jenen, welche von Winogradsky, Beijerinck und anderen Forschern beschrieben worden sind. Ich stellte außerdem fest, daß *Azotobacter* ein euryhaliner Organismus ist. Er übte noch in einer Nährlösung, die 8 Proz. Kochsalz enthielt, stickstoffbindende Tätigkeit aus.

3) Es wurde festgestellt, daß die stickstoffbindenden Bakterien am Meeresgrunde, an festsitzenden Algen und auf Planktonorganismen vorkommen.

4) Sie waren nachzuweisen an verschiedenen Stellen der Ost- und Nordsee, ferner im indischen Ozean, sowohl an der afrikanischen Küste als auch im malayischen Archipel. Nebenbei wurde festgestellt, daß sie auch auf dem tropischen Festlande (Amani, Buitenzorg) im Erdboden anzutreffen sind.

5) Anhangsweise wurde ermittelt, daß auch im Plankton von Süßwasserbecken die genannten stickstoffbindenden Bakterien weit verbreitet sind.

Vogel (Posen).

Ehrenberg, Paul, Die bakterielle Bodenuntersuchung in ihrer Bedeutung für die Feststellung der Bodenfruchtbarkeit. (Landw. Jahrb. Bd. XXXIII. 1904. Heft 1. p. 139.)

Nach verschiedenen einleitenden Auseinandersetzungen und Besprechungen der Literatur der Bestrebungen für das Studium der Bakteriologie erwähnt Verf. unter anderem, daß Hiltner, Koch und der Ref. „bei den bodenbakteriologischen Untersuchungen die Zählung der Bakterien in den Vordergrund stellen“ (p. 6). Es ist dieses eine irrtümliche Auffassung Ehrenbergs, da weder von dem einen noch von dem anderen der genannten Autoren ein derartiger Ausspruch gemacht worden ist.

Weiterhin geht der Verf. auf die in seiner Arbeit angewendete Methodik ein, welche sich im wesentlichen mit der von Remy angegebenen deckt (cfr. diese Zeitschr. Bd. VIII. p. 660).

Der zu seinen Versuchen verwendete Boden wurde mechanisch und chemisch untersucht, und sein Humusgehalt, sowie die Quelle von dessen Entstehung bei verschiedenem Fruchtanbau erörtert.

Teil I der umfassenden Arbeit ist betitelt: Die bakterielle Bodenuntersuchung als Hilfsmittel zur Orientierung über die Stickstoffbewegung des Bodens. Eingangs wird ein mit den 5 zu untersuchenden Böden angestellter Vegetationsversuch geschildert, zu dessen Erläuterung eine Tabelle beigegeben ist, mit der Anmerkung: Die angegebenen Zahlen geben die Durchschnittsergebnisse von 3 bzw. 4 Parallelgefäßen (p. 31). Es folgen dann die Untersuchungen über Denitrifikations-, Nitrifikations- und Fäulniskraft und bei Angabe des Stickstoffgehaltes die lakonische Erklärung:

Nach Abzug des in den Lösungen bei blinden Bestimmungen ermittelten, durch Magnesia usta substituierbaren Stickstoffs (p. 51). Ferner befinden sich auf Seite 58 einige wertvolle Fußnoten, aus denen hervorgeht, daß die Zahlenwerte, welche sich für die Durchschnittsberechnungen ergaben, sehr stark schwankten, und daß der Fehler nicht unerheblich ist. Der Herr Verf. beschreitet damit den leider heute „nicht mehr ungewöhnlichen Weg“, nur Durchschnittswerte anzugeben, wodurch die Arbeit, die, wie aus den Ausführungen hervorgeht, augenscheinlich sehr fleißig und sorgsam ausgeführt ist, doch ganz erheblich in ihrem wissenschaftlichen Werte leidet, was jedenfalls kaum im Interesse des Verf. liegen dürfte.

Derartige Arbeiten sind auch bezüglich der Größe des Fehlers unkontrollierbar, und es wäre wertvoll, wenn Ehrenberg und mit ihm viele andere den bereits beschrittenen Pfad wieder verließen und in die Fußtapfen der Männer träten, die wir in der Arbeit zitiert finden, von denen ich nur den einen, Hellriegel, nennen will. Aus dem genannten Grunde können die beschriebenen Untersuchungen leider nicht ausführlicher besprochen werden, es sollen daher nur die sich ergebenden Resultate eine Erwähnung finden. Verf. stellt fest, daß von „bakteriell abnormen Böden“ nicht mehr die Rede sein könne, sondern daß anzunehmen sei, daß die auffälligen Erscheinungen auf Kalkmangel beruhten, weiterhin, daß Impfungen mit den verschiedenen Bodenbakterien (Knöllchenbakterien ausgeschlossen) auch in Verbindung mit Kalk und Mistgaben eine günstige Wirkung nicht zu erzielen vermocht hätten, ferner, daß die Vegetationsversuche die höchste Bedeutung besäßen, und daß das Umfüllen und kürzeres Verweilen von Ackerböden im Vegetationsgefäße die bakteriellen Eigenschaften eines Bodens nicht wesentlich zu beeinflussen scheint, endlich daß bei der Feststellung der Stallmistwirkung auch auf andere als nur auf die Wirkung von Stickstoffgehalt und organischer Substanz Rücksicht genommen werden müsse. (Außer Kali- und Phosphorsäurewirkung auch Kalk bezw. Magnesiumgehalt und alkalische Reaktion.)

Es wäre vielleicht angebracht gewesen, vorliegender Arbeit den Titel „bakterio-chemische“ an Stelle des Wortes „bakterielle“ zu geben, da wir unter einer bakteriologischen Bearbeitung einer Frage doch etwas anderes erwarten, als wir in dieser Veröffentlichung finden. Der ansprechendste Teil der Arbeit in bakteriologischer Hinsicht ist der Anhang, in welchem Vorschläge zur Verbesserung der Methodik der Bodenbakteriologie — wenn wir überhaupt von einer solchen reden dürfen — enthalten sind.

Verf. nennt eingangs seine Arbeit das „Werk eines jungen Anfängers“. Hoffentlich wird er als solcher den eingeschlagenen Weg verlassen und den der von ihm genannten Forscher (p. 5) einschlagen, es wird ihm dann jedenfalls auch leicht gelingen, den bei Beginn seiner Arbeit angeschlagenen Ton zu mildern und die Angriffe gegen ältere Forscher in eine Sprache zu kleiden, die ihm und seinen Arbeiten Freunde erwerben wird. Thiele (Breslau).

Koch, Alfred, Bodenbakteriologische Forschungen und ihre praktische Bedeutung. (Vortrag, gehalten am 4. Dez. 1903 in der ökonom. Gesellsch. im Königr. Sachsen.)

Verf. bespricht eingehend die im Anschluß an die Caronschen Mitteilungen über die Bewirtschaftung schweren Bodens nach bakteriologischen Grundsätzen ausgeführten Untersuchungen über die durch Mikroorganismen hervorgerufene Ansammlung und Umbildung von Stickstoff in den Kulturböden. Es ist volkswirtschaftlich von größter Bedeutung, das Stickstoffkapital der atmosphärischen Luft besser als bisher für Industrie und Landwirtschaft auszunutzen. K. schildert die in dieser Richtung bisher durch Chemie und Elektrizität einerseits und durch die Bakteriologie andererseits erzielten Erfolge. Nachdem mit Sicherheit erkannt worden war, daß außer der Stickstoffsammlung durch Leguminosen im Boden eine durch Bakterientätigkeit bewirkte Stickstoffbindung stattfindet, war das Bestreben der Bodenbakteriologie darauf gerichtet, die hierbei beteiligten Organismen näher kennen zu lernen und, wenn möglich, ihre Leistung zu steigern. In Reinkultur gewonnen und näher studiert sind bis jetzt zwei Arten stickstoffbindender Bakterien, nämlich das *Clostridium Pasteurianum* Winogradsky und die *Azotobacter*-Arten von Beijerinck. Die Verbreitung dieser Mikroben ist eine ganz allgemeine, und daher sind alle Bemühungen, durch Impfung von Boden oder Saatgut mit solchen Bakterien günstig auf die Ernteerträge einzuwirken, bisher gescheitert. Da es noch nicht gelungen ist, die stickstoffbindende Energie der hier in Betracht kommenden Organismen zu steigern, so hat man versucht, durch Schaffung möglichst günstiger Lebensbedingungen fördernd auf dieselben einzuwirken. K. geht auf die sich hier ergebenden Maßnahmen der Bodenbearbeitung näher ein und widmet besonders der durch die Caronschen Erfolge wieder in den Vordergrund des Interesses gerückten Brachbearbeitung eine eingehende Betrachtung. Daß bei häufiger und gründlicher Durchlüftung des Bodens die stickstoffsammelnde Tätigkeit der Bodenbakterien erhöht werden kann, wurde von K. durch Vegetationsversuche experimentell bestätigt. Es darf daher wohl der Schluß gezogen werden, daß auch die bei richtiger Brachehaltung häufige Bodendurchlüftung in ähnlicher Weise begünstigend auf die Bakterientätigkeit einwirkt.

Vogel (Posen).

Wimmer, G., Beitrag zur Kenntnis der Nitrifikationsbakterien. (Zeitschr. für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. XLVIII. 1904. Heft 1. p. 135.)

Durch Winogradsky und später durch Omelianski wurde festgestellt, daß es eine bestimmte Bakterienart, welche im stande ist, organische Substanz bis zur Salpetersäure zu oxydieren, nicht gibt; vielmehr werden die stickstoffhaltigen organischen Stoffe durch bestimmte Bakterien in Ammoniak übergeführt, von anderen wieder wird das Ammoniak zu salpetriger Säure und diese letztere wieder von anderen Bakterien zu Salpetersäure oxydiert. Keiner dieser Gruppen kommt die Fähigkeit zu, die andere zu vertreten; sie wirken nacheinander und der Prozeß kommt zum Stillstand, sobald eine der Bakterienarten fehlt. Nach Winogradsky gedeihen die Nitrifikationsbakterien auf den gebräuchlichen stickstoffhaltigen Nährböden nicht, sondern nur auf rein mineralischen; sie

schöpfen ihre Energie allein aus der Zersetzung des Ammoniaks bzw. der salpetrigen Säure. Wimmer unternahm es nun, einige Grundfragen über die Lebensbedingungen der Nitrifikationsbakterien aufs neue zu prüfen. Seine Versuche erstreckten sich auf:

- 1) Isolierung der Nitrifikationsbakterien aus Gartenerde und Prüfung der Nitrifikationskraft,
- 2) Einwirkung organischer Substanzen und
- 3) mineralischer Stoffe auf das Leben dieser Bakterien, endlich
- 4) Widerstandsfähigkeit derselben gegen äußere Einflüsse.

Die Isolierung der Nitrifikationsbakterien aus der Erde erfolgte mittels der von Winogradsky angegebenen Methode der negativen Platten.

Das Resultat der Wimmerschen Arbeit läßt sich in folgende Sätze zusammenfassen:

1) Die Oxydation des Ammoniaks zu salpetriger Säure bzw. Salpetersäure wird durch zwei verschiedene Bakterienarten bewirkt, von denen die eine nur das Ammoniak in salpeterartige Säure, die andere nur salpetrige Säure in Salpetersäure verwandeln kann.

2) Beide vorgenannte Bakterienarten wachsen nicht in Bouillon. Es gelang niemals, durch Bakterien, welche in Bouillon gedeihen konnten, eine Nitrifikation des Ammoniaks der salpetrigen Säure hervorzurufen.

3) Die von Wimmer isolierten Bakterien gehörten offenbar derselben Gattung an, welche Winogradsky und Omelianski, sowie Stutzer vor sich hatten (*Nitromonas* und *Nitrobacter*).

4) In einem lockeren, wasserhaltigen, gut durchlüfteten Sand vermögen diese Bakterien bedeutend besser zu gedeihen als in Lösungen, und werden dann durch die Anwesenheit organischer Substanzen (Pepton) weniger beeinflußt als wenn sie in Flüssigkeiten wachsen.

5) Ganz ohne Phosphorsäure vermochten die Bakterien nicht zu gedeihen, doch genügten außerordentlich geringe Mengen zur Entfaltung ihrer Tätigkeit.

6) Die Widerstandsfähigkeit der Nitrifikationsbakterien gegen äußere Einflüsse, insbesondere Trockenheit, scheint im natürlichen Boden eine ziemlich große zu sein; andauernde Erwärmung des Bodens schien günstig zu wirken. Schill (Dresden).

v. Seelhorst, Freckmann und Büniger, Untersuchungen über den Einfluß der Feuchtigkeit des Bodens auf das Wachstum, den Wasserverbrauch und die Stickstoffsammlung verschiedener Lupinenarten. (Illustr. landw. Ztg. 1904. No. 38.)

Die Versuche wurden mit gelben, blauen und roten Lupinen in Vegetationsgefäßen ausgeführt. Die Wasserzufuhr war so geregelt, daß die Bodenfeuchtigkeit während der ganzen Vegetationsperiode 45, 58, 71 oder 84 Proz. der wasserhaltenden Kraft der verwendeten Erde betrug. Bei allen 3 Lupinenarten wurden die höchsten Ernten in den am feuchtesten gehaltenen Erden erzielt, auch die Stickstoffträge stiegen mit erhöhter Bodenfeuchtigkeit beträchtlich und waren beim größten Wassergehalt des Bodens etwa 3mal höher als beim geringsten. Die blauen und roten Lupinen

ergaben bei allen Feuchtigkeitsgraden höhere Ernte- und Stickstofferträge als die gelben und haben sich diesen überhaupt in jeder Beziehung überlegen gezeigt. Der Wasserverbrauch der einzelnen Sorten war verschieden, den geringsten wies die gelbe, den höchsten die blaue Lupine auf. Vogel (Posen).

Nobbe, F. und Biechter, L., Ueber den Einfluß des im Kulturboden vorhandenen assimilierbaren Stickstoffs auf die Aktion der Knöllchenbakterien. (Landw. Versuchsstationen. Bd. LIX. p. 167.)

Die Beobachtung, daß ein höherer Gehalt des Bodens an Stickstoff, namentlich an Nitratstickstoff, die Tätigkeit der Leguminosen-Knöllchenbakterien nachteilig beeinflusse, gab den Verf. Veranlassung, diese Frage neuerdings zu prüfen. Im ersten Versuchsjahr wurde beobachtet, daß die Impfwirkung bei zunehmendem Bodenstickstoff abnimmt. Die Stickstoffmengen in den Pflanzen des geimpften Bodens waren beträchtlich höher als die des ungeimpften; jedoch ist das Verhältnis dieser Mehrwerte verschieden nach der Quantität des zugeführten assimilierbaren Stickstoffs, und zwar zu Ungunsten des höheren Gehaltes an assimilierbarem Bodenstickstoff. Im zweiten Versuchsjahr wurde ohne Nitratstickstoff gedüngt, dagegen wurde der Bodenstickstoff durch Mischung des Sandes mit Gartenerde vermehrt. Im geimpften Boden ergab sich ein Mehr an Trockensubstanz von 68 Proz. und an Stickstoff von 156 Proz. gegenüber dem ungeimpften. Im dritten Jahr waren im geimpften Boden ungefähr 230 Proz. Trockensubstanz und 657 Proz. Stickstoff mehr als im ungeimpften. Haeusler (Ludwigshafen).

Sestini, Bildung von salpetriger Säure und Nitrifikation als chemischer Prozeß im Kulturboden. (Die landw. Versuchsstationen. Bd. LX. p. 103.)

Verf. konnte in einwandfreier Weise feststellen, daß die Ansicht Bonnemas, der primäre Vorgang bei der Fixierung von atmosphärischem Stickstoff in Kulturböden sei ein rein chemischer, auf die Oxydation von Stickstoff zu salpetriger Säure mittels Eisenhydroxyd zurückzuführender Prozeß, eine irrige ist. Die Eisensalze sind nur im stande, das in der Bodenluft bereits vorhandene Ammoniak in salpetrige Säure überzuführen. „Es handelt sich im Grunde genommen nicht um einen absoluten Zuwachs an assimilierbarem Stickstoff, sondern bloß um eine Ueberführung desselben in eine andere Form.“ Verf. ist dagegen mit Bonnema der Auffassung, daß ein mehr oder weniger großer Teil der in der Ackererde entstehenden salpetrigen Säure auf rein chemischem Wege, eben durch Oxydation von Ammoniak durch Eisensalze, gebildet werden kann. Da das Eisenoxydhydrat seine ammoniakoxydierende Wirkung auch bei Gegenwart von bakteriziden Substanzen, wie Thymol oder Sublimat, äußert, so schließt Verf., daß neben dem genau erforschten biologischen Vorgang der Nitrifikation auch eine rein chemische Umwandlung von Ammoniak in salpetrige Säure im Boden vor sich geht. „Eisenoxydhydrat entfaltet bei gewöhnlicher Temperatur, d. i. zwischen 15 und 25° C eine katalytische

Wirkung. Im Boden bildet sich salpetrige Säure auch unabhängig von der Tätigkeit der Nitrosomonaden.“ Vogel (Posen).

Wahl, R. und Nilson, A., Säurebildung durch Bakterien und die Funktionen der Peptase während des Keimens und Maischens. (Allgem. Brauer- und Hopfenztg. Jahrg. XLIV. 1904. No. 195.)

Die Verff. geben zunächst einen Ueberblick über die Forschungen nach der Wichtigkeit der Eiweißkörper und ihren Einfluß auf Geschmack, Vollmundigkeit, Schaumbeständigkeit, Glanz und Haltbarkeit des Bieres. Hierauf folgt die Schilderung von Versuchen, die zu den folgenden Resultaten führen: Die Menge und die Art der in Lösung gebrachten Eiweißkörper hängt von der Temperatur und Zeit des Ausziehens ab. Die Temperatur, bei der die größte Menge Eiweiß durch das Maischen löslich gemacht wird, stimmt mit der Temperatur überein, die der Entwicklung der säurebildenden Bakterien am günstigsten ist, d. h. einer Temperatur von etwa 45° C. Die bei dieser Temperatur gebildeten Albumine sind vermöge ihrer Weichheit und Klebrigkeit besonders geeignet, die Würze zu klären. Jeder Versuch, die Ursache der chemischen Veränderungen, welche während des Mälzens und Maischens eintreten, ohne Berücksichtigung der bakteriellen Wirkung zu erklären, muß vergeblich sein. Der fundamentale Unterschied zwischen Mälzen und Maischen liegt in der Mitwirkung der lebendigen Pflanze und der Bakterien beim Mälzen; diese Mitwirkung fehlt beim Maischen.

Kausch (Charlottenburg).

Telchert, Bakteriologisch-chemische Studien über die Butter in der Provinz Posen mit besonderer Berücksichtigung der Tuberkelbacillen. [Inaug.-Diss.] Jena (Gustav Fischer) 1904.

Bei der vom Verf. durchgeführten systematischen Untersuchung von 40 Proben der in der Provinz Posen produzierten gesalzenen Sauerrahmbutter handelte es sich um Produkte, welche aus über die ganze Provinz gleichmäßig verteilten Molkereien stammten. Der Keimgehalt der untersuchten Proben schwankte zwischen 541176 und 22010600 in 1 g Butter. Verf. konnte in Uebereinstimmung mit H. Schmidt die Beobachtung machen, daß beim Lagern der Butter der Keimgehalt zunächst bedeutend ansteigt, um dann allmählich wieder abzufallen. Als sehr resistent erwiesen sich die in den Butterproben enthaltenen Hefen, so daß längere Zeit aufbewahrte Butter zuweilen eine Reinkultur derselben darstellte.

Regelmäßig konnten Mikroben aus der Gruppe der Milchsäurebakterien und wilde Hefen, besonders *Torula*-Hefen, in den Proben aufgefunden werden, dagegen kam der an anderen Orten fast stets in der Butter nachgewiesene *Bacillus fluorescens liquefaciens* niemals zur Beobachtung, wahrscheinlich wegen des verhältnismäßig hohen Salzgehaltes der Posener Butter. Fast in keiner der untersuchten Proben fehlte *Oidium lactis*, *Peni-*

cillium glaucum fand sich häufig, *Mucor mucedo* seltener in solchen Fällen, wo der Rahm vor der Verbutterung wahrscheinlich mehrere Tage lang aufbewahrt worden war. Außerdem hat Verf. zwei bisher noch nicht beschriebene Arten aus Milch isoliert, einen grünen, fluoreszierenden Coccus (*Micrococcus butyri fluorescens*) und ein braunes Stäbchen (*Bacillus butyri bruneus*), über deren morphologisches und kulturelles Verhalten nähere Angaben gemacht werden.

Ueber das biologisch-chemische Verhalten der isolierten Mikroorganismen in Milch, besonders über die Umsetzung der Stickstoffverbindungen derselben durch Reinkulturen der betreffenden Mikroben hat Verf. umfangreiche Untersuchungen angestellt, über welche zum Teil auch besonders berichtet wurde (siehe diese Zeitschrift. Bd. X. p. 219 und Bd. XII. p. 492).

Die mit der größten Sorgfalt durchgeführte Untersuchung der 40 aus 36 verschiedenen Molkereien stammenden Butterproben auf Anwesenheit von Tuberkelbacillen ergab das zweifellose Vorkommen virulenter Tuberkelbacillen in den Produkten aus 8 verschiedenen Molkereien (= 22,22 Proz.). Eine fragliche Tuberkelbacillenanwesenheit wurde in 3 Fällen (= 8,33 Proz.) festgestellt. Bei den positiven Fällen handelt es sich ausschließlich um Genossenschaftsmolkereien, und unter diesen stellten wiederum die Großbetriebe den stärksten Prozentsatz. „Es zeigt sich also auch in der Provinz Posen hinsichtlich der Verbreitung der Tuberkulose die Gefahr der genossenschaftlichen Betriebe, wo eine einzige tuberkulöse Kuh die gesamte Mischmilch infizieren kann.“

Die Untersuchungen des Verf. sprechen dafür, daß die Tuberkelbacillen in der mit Salz versetzten Sauerrahmbutter nach etwa 3 Wochen ihre Virulenz für Meerschweinchen verlieren. Bei den „positiven“ Fällen hatten die Milchtierstets Stallfütterung erhalten.

Der umfangreichen Arbeit ist eine ausführliche Literaturübersicht beigegeben. Außerdem enthält sie Angaben über die chemische Zusammensetzung der untersuchten Butterproben und über die allgemeinen milchwirtschaftlichen Verhältnisse in der Provinz Posen.

Vogel (Posen).

Gordan, Bakteriologische Untersuchungen zur Beurteilung von Kleien nach ihrer Neigung zur Schimmelbildung (Keimkastenmethode). (Die landw. Versuchstationen. Bd. LX. p. 73.)

—, Ueber Kleiefütterungsversuche an weißen Mäusen mit tödlichem Ausgange. (Ebenda. p. 91.)

Verf. unterzog das vom Verbands der landwirtschaftlichen Versuchstationen vorgeschlagene Verfahren zur Prüfung von Futtermitteln auf Neigung zur Schimmelbildung einer kritischen Nachprüfung. Er machte seine Studien an Roggen- und Weizenkleien und suchte zunächst den Einfluß der zur Anfeuchtung des Futtermittels dienenden Wassermenge festzustellen. Dabei zeigte es sich, daß ein Wasserzusatz von etwa 5 ccm zu 3 g Kleie die

besten Bedingungen für die Schimmelentwicklung bei 35° C ergab. Bei der gleichzeitig vorgenommenen Prüfung der Kleien auf Zahl und Art der in ihnen enthaltenen Bakterien durch das Gelatineplattenverfahren wiesen die im Brütschranke schimmelnden Proben fast immer eine kleinere Zahl von Bakterien auf als die nicht schimmelnden. Diese Erscheinung erklärt sich vielleicht durch den vom Verf. erbrachten Nachweis, daß bei diesem Untersuchungsverfahren (Keimkastenmethode) eine ungeheure Vermehrung der Bakterien stattfindet, und daß dabei Zersetzungserscheinungen auftreten, welche dem Schimmelpilzwachstum hinderlich sind. Reine Kleien, welche nur wenig Bakterien enthielten, zeigten daher nach 2 Tagen im Keimkasten starkes Schimmelpilzwachstum, während manche stark verunreinigten und verdorbenen Proben mit sehr hohem Bakteriengehalt häufig überhaupt nicht zur Schimmelbildung kamen, obwohl in diesen Materialien Schimmelpilze zweifellos vorhanden waren. Aus diesen Gründen schätzt Verf. den Wert dieser Methode nicht allzuhoch ein.

G. hat drei besonders häufig in Kleien vorkommende Bakterienarten isoliert und näher studiert, nämlich *Bacillus liquefaciens*, *Bacterium coli* und ein von ihm *Bacillus flavus coli-similis* genanntes Kurzstäbchen. Von Interesse ist, daß *Bacterium coli* in guten Kleien in 0,1 und 0,01 mg nicht nachgewiesen werden konnte, bei minderwertigen sich aber fast regelmäßig in diesen Verdünnungen vorfand.

Die Coli-Arten waren zum Teil pathogen für weiße Mäuse. Bei intraperitonealer Injektion selbst kleiner Kulturmengen starben die Tiere nach kurzer Zeit. Gelegentlich dieser Versuche zeigte es sich, daß weiße Mäuse nach Verfütterung von Roggen- und Weizenkleie regelmäßig eingingen, auch dann, wenn die Kleien vorher gekocht worden waren. Gemahlene Roggen- und Weizenkörner wurden von den Tieren dagegen gut vertragen. G. schließt aus diesen Versuchen, daß Kleie, auch wenn sie tadellos rein und frisch ist, von Tieren mit empfindlichem Verdauungsapparate schlecht vertragen wird, und daß die nach Kleiefütterung auch bei unseren landwirtschaftlichen Nutztieren zuweilen auftretenden Erkrankungen wahrscheinlich hierauf zurückzuführen sind.

Vogel (Posen).

Godlewski, E., Vergärung von Zucker durch Pflanzensamen. (Allgem. Brauer- u. Hopfenztg. Jahrg. XLIV. 1904. No. 199.)

Verf. hat neuerdings einige Versuche über die intramolekulare Atmung der Lupinensamen ausgeführt und dazu letztere in eine vergärbare Zuckerlösung (Trauben-, Frucht- und Rohrzucker) gebracht. Seine Resultate sind folgende:

Die Lupinensamen entwickeln in reinem Wasser unter Sauerstoffabschluß nur eine ganz schwache intramolekulare Atmung, die aber ziemlich stark wird, wenn dem Samen eine geeignete Zuckerart dargeboten wird. Die intramolekulare Atmung der Lupinensamen dauert 6—8 Wochen und beruht in Zuckerlösungen auf der

alkoholischen Gärung. Dabei wird Traubenzucker leichter als Fruchtzucker vergoren, Rohrzucker wird erst invertiert und dann vergoren. Er ist schwerer als Traubenzucker dem Lupinensamen zugänglich. Durch die intramolekulare Atmung, die sich auf Kosten der Zuckerarten entwickelt, wird die Hydrolysierung der Reservekohlenhydrate der Lupinensamen und ihre Verwendung zur intramolekularen Atmung erleichtert, so daß die Lupinensamen, welche in Zuckerlösungen sich befinden, mehr von ihren eigenen Kohlenhydraten vergären als in reinem Wasser. Die Wurzeln der in Rohrzuckerlösung bei Sauerstoffabschluß gekochten Lupinensamen werden 3—6 mm lang und sterben dann ab. Ein bedeutender Teil der Eiweißstoffe erleidet während der intramolekularen Atmung der Samen in Zuckerlösungen tiefgreifende Zersetzungen, deren Verlauf erheblich anders als bei Sauerstoffatmung ist.

Kausch (Charlottenburg).

Loew, Oskar, Ueber den Zusammenhang zwischen Labilität und Aktivität bei den Enzymen. (Pflügers Archiv. Bd. CII. 1904.)

Von den im ersten Teil gegebenen theoretischen Erörterungen sei folgendes hervorgehoben:

Die aktive Beschaffenheit der Enzyme beruht auf dem Vorhandensein kinetisch labiler Atomgruppen, welche kleinen Maschinen gleichen, die Wärme in chemische Energie umsetzen können.

Loew unterscheidet kinetisch labile Körper (wie Aldehyde, Ketone, Amidoaldehyde, Amidoketone, Enzyme) und potentiell labile (Nitroglycerin, Nitrocellulose etc.)

Kinetisch labile Atomgruppierungen haben nicht bloß große Beweglichkeit, sondern einen faktischen lebhaften Bewegungszustand, welcher durch Wärme im Gang erhalten wird und mit der Temperatursteigerung an Intensität zunimmt, bis Atomumlagerung oder Polymerisation eintritt.

Grant Allen¹⁾ unterscheidet bei jeder kinetischen Energieform drei Zustände, einen separativen, einen aggregativen und einen kontinuierlichen. Kinetische chemische Energie tritt sowohl bei Zersetzungen auf als auch bei Vereinigung von Substanzen; für den dritten kontinuierlich wirkenden Zustand wußte er kein Beispiel zu nennen. Diese Form liegt bei den labilen Substanzen vor. Sie kann von diesen auf andere weniger labile, aber immerhin noch leicht veränderliche Körper so übertragen werden, daß letztere chemisch verändert werden (Katalyse). So kann, wie Liebig beobachtete, Dicyan durch wässrigen Aethylaldehyd in Oxamid verwandelt werden. Salzsäure und Blausäure verbinden sich erst unter Druck bei höherer Temperatur miteinander; Gegenwart von Essigäther führt die Vereinigung schon bei -15° C herbei (Claisen und Mathews). Die Kondensation von Triphenylmethyl zu Hexaphenyläthan wird durch Kontakt mit Halogenderivaten von Aethern (am besten Monochlormethyläthyläther) her-

1) Force and Energie. London 1880.

beigeführt (G o m b e r g). Thioharnstoff wird in Berührung mit einer alkoholischen Lösung von Aethylnitrit zu Rhodanammonium umgelagert (Claus). Auch in den Aethern und Estern ist eben eine gewisse Menge kinetischer chemischer Energie anzunehmen, welche aus der thermischen Atombewegung hervorgeht.

Solche katalytische Wirkungen haben wir auch in der Aktivität der Enzyme vor uns; es ist ja auch hier der labile Zustand aufs innigste mit den Energieäußerungen verknüpft. Sind die labilen Atomgruppen durch Umlagerung oder irgend eine andere Veränderung verschwunden, so hört auch die Wirkung sofort auf¹⁾. Die Vertreter der physikalischen Chemie haben dem Wesen der chemischen Labilität bisher wenig Beachtung geschenkt, und einer derselben hat erst vor kurzem erklärt: „daß die Enzyme wohl im stande sind, vorhandene Spannkkräfte auszulösen, aber nicht selbst Energie abzugeben, was insofern selbstverständlich ist, als sie bei den stattfindenden Reaktionen nicht verbraucht werden“. Dieser Ausspruch läßt klar erkennen, daß das Wesen der Enzyme von dieser Seite her wenig Aussicht auf eine baldige Klarstellung hat. Muß denn eine Maschine zu Grunde gehen, wenn sie einmal eine Arbeit geleistet hat? Die Enzyme sind so lange aktionsfähig, als die labilen Gruppen, welche thermische in chemische Energie umwandeln können, erhalten sind.

Zur möglichst vollständigen Uebertragung der Energie gehört eine möglichst innige Berührung, eine molekulare Adhäsion der Enzyme an ihrem zu verändernden Substrat. Daß die Konfiguration der Substratmoleküle in der Tat hierbei eine wichtige Rolle spielt, hat E. Fischer gezeigt. So wird z. B. das α -Methylglykosid von Invertin gespalten, aber nicht das β -Methylglykosid, während umgekehrt das Emulsin das letztere spaltet, aber nicht das erstere. Doch auch die stereochemischen Vorstellungen, welche diese Erscheinungen gut erklären, sind nicht nach dem Geschmack mancher Autoren, obwohl diese absolut nichts Besseres an die Stelle zu setzen wissen.

Die Wirkungen der Enzyme bestehen bekanntlich entweder 1) in einfacher Spaltung, wie bei Depolymerisierung von Stärke zu den Dextrinen oder der Spaltung des Hydroperoxyds in Sauerstoff und Wasser, oder 2) in Hydrolyse²⁾, wie bei der Spaltung von Rohrzucker und den meisten Glykosiden, oder 3) in Zersetzung unter weitgehender Atomverschiebung mit oder ohne gleichzeitiger Hydrolyse, wie bei der Zymasegärung oder bei Proteinspaltung durch Trypsin.

„Die im obigen erörterte Auffassung hat unstreitig manche Aehnlichkeit mit der Liebigs und Nägelis. Liebig nahm zur Erklärung der Fermentwirkungen einen speziellen Bewegungszustand an, der übertragen werde; diese Bewegung sollte durch sich zersetzende Körper herbeigeführt werden.

1) Die Enzyme, welche durch Atomumlagerung ihrer labilen Gruppen verlustig gegangen sind, ähneln teilweise den gewöhnlichen Albumosen und Peptonen.

2) Der Begriff Hydrolyse wird oft ungehörig erweitert und sogar auf totale Zersetzungen mit Atomverschiebungen bezogen.

Nägeli dagegen nahm an, daß die von den Fermenten ausgehenden Bewegungszustände nicht Zersetzungen zuzuschreiben sind, sondern der freien Wärme der Atmosphäre oder der in den Zellen durch die Atmung produzierten Wärme. Diese Wärmeschwingungen könnten von den Fermentsubstanzen in geeigneter Weise übertragen werden. Nägeli, dem die Pflanzenphysiologie so viel verdankt, hatte das Studium der neueren theoretischen Chemie vernachlässigt, er kannte den wahren Charakter chemisch labiler Substanzen nicht.“

Im zweiten Teil wird der experimentelle Beweis versucht, daß die labilen Atomgruppen der Enzyme Ketongruppen (nicht Aldehydgruppen¹⁾ wie im Protoplasma) und Amidogruppen seien.

Ketongruppen reagieren (wie Aldehydgruppen) leicht in neutraler Lösung und selbst bei hoher Verdünnung mit Hydrazin, Methyl- und Phenylhydrazin, ferner mit Hydroxylamin, wobei Verbindungen entstehen, welche Hydrazone und Oxime (Ketoxime) genannt werden.

Die Enzyme werden also gegen jene Stoffe empfindlich sein müssen. Das hat sich auch bestätigt bei den Experimenten von O. Loew und K. Aso.

Als „Reagens“ auf Amidogruppen verwandte O. Loew das Vicyan. Dasselbe erwies sich faktisch bei „Zymase“ als sehr schädlich. Ferner die salpetrige Säure; die Enzyme sind gegen diese faktisch sehr empfindlich.

Formaldehyd reagiert auch leicht mit Amidogruppen. Demgemäß ist der Formaldehyd ein starkes Gift für die Enzyme etc.

Th. Bokorny (München).

Bokorny, Th., Ueber die Ausgestaltung der Gärungstheorie bis zur Gegenwart. (Allgem. Brauer- u. Hopfentzgt. 28. Juni 1904.)

Es sei hier nur einiges über die neueste Ausgestaltung der Gärungstheorie und ihre Berechtigung hervorgehoben.

Die neueste Gärungstheorie ist bekanntlich die enzymatische, sie ist eine Umbildung der von Pasteur und Nägeli begründeten vitalistischen Gärungstheorie, wonach jede Gärung von einem Gärungsorganismus bedingt ist; nur soll es nach der neuesten Lehre nicht der Gärungsorganismus selbst, sondern ein von ihm produziertes Gärungsenzym sein, welches die Gärung bewirkt.

Wenn man mit E. Buchner das Enzym als leblose Materie definiert (was wohl verfehlt sein dürfte), dann ist der Sprung ein sehr großer; das eigentliche vitalistische Gebiet ist wieder verlassen.

Die Enzymtheorie hat seit ihrer Aufstellung große Kämpfe zu bestehen gehabt und ist noch nicht ganz auf sicheren Boden gestellt.

Vor allem stand der Enzymtheorie in den Augen vieler das Mißlingen der Isolierung eines alkoholbildenden Enzymes entgegen;

1) Die Enzyme reduzieren alkalische Silberlösung nicht.

wiewohl der Begründer, Max Traube, dieser Theorie sich dadurch nicht beirren ließ: „Wenn niedere Organismen die Ursache der Gärung sind, so darf eine gesunde Naturforschung daraus nur schließen, in diesen Lebewesen seien Stoffe enthalten, welche die Gärung bewirken. Die Stoffe müssen isoliert werden, und wenn dies nicht gelingt, so liegt dies daran, daß die zur Abscheidung angewandten Mittel jene Stoffe verändern. Wenn wir einen Diabetiker alles Amylum in Zucker verwandeln sehen, so würde man eine Hypothese für lächerlich halten, die den Diabetiker schlechthin als das Ferment für diese Umsetzung hinstellte und dadurch die ganze Frage als erledigt betrachtete.“

Adolf Mayer gelang es nicht, durch irgend eine Versuchsanstellung die alkoholische Gärung von dem Leben der Hefezellen zu trennen.

Pasteur selbst suchte sehr eifrig nach einem Enzym der alkoholischen Gärung, einer sogenannten „Alkoholase“; aber vergebens. Nägeli und Loew extrahierten die Hefe mit Wasser und mit Glycerin, fällten die Auszüge mit Alkohol. „Es konnten indessen außer der Eigenschaft, Rohrzucker zu invertieren, keine anderen fermentativen Wirkungen an dem erhaltenen Präparat wahrgenommen werden.“ Durch bloße Einwirkung von Lösungsmitteln war es offenbar nicht möglich, das Gärungsferment von den Hefezellen zu trennen.

Man dachte deswegen an eine Zertrümmerung oder Zerreißung der Zellen, es sollte damit die für die Isolierung offenbar hinderliche Zellmembran und der Plasmaschlauch aus dem Wege geräumt werden. Zugleich mußte durch die Raschheit des Verfahrens verhindert werden, daß schon während der Gewinnung eine Veränderung der Inhaltssubstanzen eintreten konnte. Das waren Erwägungen, wie sie hauptsächlich von den Brüdern Buchner (H. und E.) angestellt wurden, und die schließlich zur Gewinnung des Hefepreßsaftes führten.

Schon 1846 war es, wie die genannten Autoren später fanden, Lüdersdorff in Berlin gelungen, nasse Hefezellen auf einer matt geschliffenen Glasplatte mit Hilfe eines gläsernen Läufers zu zerreiben (bei 1-stündigem Reiben); die Gärfähigkeit war damit allerdings verschwunden.

v. Manassein zerrieb in J. Wiesners Universitätslaboratorium in Wien lufttrockene Hefe mit gepulvertem Bergkristall in einem Glasmörser (6 bzw. 15 Stunden lang). Die meisten Zellen erwiesen sich als zerstört, das Gärvermögen war noch da; es hatten sich aber doch noch sproßfähige Zellen erhalten, wie die weitere Untersuchung lehrte; es war somit nicht gelungen, alle Hefezellen zu zerreiben, der Versuch war also nicht ganz geglückt.

E. Buchner stellte schließlich nach bekannter rasch auszuführender Methode (unter hohem Druck) einen Hefepreßsaft her, der wahrscheinlich keine ganzen lebenden Zellen mehr enthält und doch Gärkraft besitzt. Derselbe kann übrigens zur Sicherheit durch Porzellanbiskuitkerzen keimfrei filtriert werden und hat dann seine Wirksamkeit nicht vollständig verloren. Ferner setzt

die Gärung bei Zuckerzusatz viel zu rasch ein, als daß man sie auf die paar lebenden unversehrten Hefezellen schieben könnte, die noch vorhanden sein können. Durch Zusatz von antiseptischen Mitteln, wie Chloroform, Toluol oder durch hohe Zucker- und Glycerinmengen kann man ferner die Lebensfunktionen etwa vorhandener lebender Zellen hintanhalten; die Gärung bleibt dann nicht aus. Buchner schloß daraus, daß es eine „zellenfreie Gärung“ gebe.

Nun kamen aber Gegner, die behaupteten, der Preßsaft enthalte „Protoplasmasplitter“, und die Gärung sei darauf zurückzuführen.

Demgegenüber hebt E. Buchner hervor, daß das wirksame Prinzip des Preßsaftes, die „Zymase“, unempfindlich gegen gewisse Mittel sei, die sonst die Lebenstätigkeit der Organismen ausschließen, wie z. B. gegen Toluol, das in 1-proz. Lösung die Wirkung lebender Hefezellen auf Zucker völlig unterbindet, dagegen die Gärkraft des Hefesaftes kaum beschädigt.

Ferner wird die Gärwirkung des Preßsaftes durch Zusatz von 40 Proz. Rohrzucker im ganzen nicht verringert. Daß nun lebende Hefe nicht im stande sei, deutliche Gärung in 40-proz. Zuckermischung hervorzurufen, davon konnte sich Verf. bei seinen Versuchen über Hefe und hohe Zuckerkonzentration nicht überzeugen. Die Gärkraft ist sogar noch bei 60 Proz. Zucker noch zu erkennen. Bei längerer Einwirkung erlischt die Gärkraft wie das Leben der Zelle, während die Enzyme wie das Invertin nicht abgetötet werden. Darin bekundet sich also gerade die Aehnlichkeit der „Zymase“ mit dem Protoplasma.

Auch der Beweis, der in der Widerstandskraft gegen Alkohol liegen soll, ist nicht ganz gelungen. Denn es handelt sich dabei nur um gradweise Verschiedenheiten. Die Gärkraft der Hefe wird durch absoluten Alkohol ebenso vernichtet, wie das Leben, nur geht es in ersterem Fall etwas länger her.

Ueberhaupt müssen die auf verschiedene Empfindlichkeit hinauslaufenden Beweise alle als mehr oder weniger mißglückt erachtet werden, wie Verf. schon in Pflügers Archiv hervorgehoben hat (Bd. XCIII. 1903). Es sei folgendes aus diesem Artikel herausgegriffen:

1) Die Assimilationstätigkeit wie auch die gesamten übrigen Plasmafunktionen werden bei manchen Pilzen (Schimmelpilzen) durch Gegenwart von 1 Proz. einer starken Mineralsäure nicht verhindert.

2) Die meisten Enzyme sind gegen so starke Säure nicht widerstandsfähig. So wird durch 1-proz. Salzsäure das Invertin binnen 24 Stunden geschwächt. Die „Zymase“ wird dadurch binnen 24 Stunden dauernd unwirksam; ja sogar $\frac{1}{2}$ -proz. Schwefelsäure vernichtet dieselbe binnen 24 Stunden.

3) Auch gegen Alkalien ist manches Protoplasma weniger empfindlich als die meisten Enzyme. So wachsen und assimilieren gewisse Bakterien bei 0,1-proz. Natron ungehindert weiter, während z. B. das Invertin der Hefe in einigen Tagen unwirksam wird, das Gärvermögen verloren geht.

4) Es gibt kein für das Protoplasma schädliches Mittel, welches nicht zugleich auch für die Enzyme schädlich ist, und umgekehrt. Sollte ein Enzym bei gewöhnlicher Temperatur auffallend widerstandsfähig sein, so kann man durch gleichzeitige Anwendung von 30—35° Wärme die schädliche Wirkung des Giftes leicht dartun.

5) Die Schädlichkeit nimmt in jedem Falle mit der Konzentration des Giftes ab, und es läßt sich sowohl beim Protoplasma als beim Enzym eine Konzentration finden, welche nicht schädigt (unter Umständen sogar nützt — durch Anreiz).

6) Die „Zymase“ steht dem Protoplasma am nächsten hinsichtlich des Widerstandes gegen schädliche Einflüsse. Die wirkliche Entscheidung über Protoplasma- und Enzymnatur könnte hier wie immer nur durch den Nachweis der bestimmten Organisation oder des Fehlens einer solchen herbeigeführt werden. Dazu besitzen wir aber kein verlässiges Mittel. Das Erlöschen der Funktion bei gewissen schädlichen Einwirkungen kann die Entscheidung über die Frage, ob „Protoplasma oder Enzym“, nicht bringen. Die Löslichkeit in Wasser spricht gegen die Protoplasmanatur, da das Protoplasma nach den bisherigen Beobachtungen nie eine wirkliche Lösung darzustellen scheint. Doch ist auch bei einer Lösung, wenn dieselbe eine „micellare“ ist, Organisation, das ist bestimmte spezifische Aneinanderreihung der Moleküle, möglich.“

Ein in letzteres Kapitel einschlagender Beweis E. Buchners ist folgender:

Wären im Hefepreßsaft Protoplasma Klümpchen vorhanden, so könnten dieselben wahrscheinlich abzentrifugiert werden, da es gelingt, Hefezellen und Bakterien auf diese Weise zu unterscheiden. Der Versuch fiel negativ aus.

Die „Protoplasmasplitter“ können aber so klein sein, daß von diesem Verfahren nichts zu erwarten ist, oder das Gärplasma stellt überhaupt eine micellare Lösung dar.

Hält man dazu, daß die Gärkraft der Hefe in den weitaus meisten Fällen mit dem Leben derselben für immer verschwindet, so erscheint die Enzymtheorie der Gärung noch nicht als eine so ausgemacht richtige, wie sie oft dargestellt wird.

Die Zahl der Gegner der Enzymtheorie ist in neuester Zeit nicht gesunken, sondern gewachsen.

J. Iwanowsky gelangte 1902 in seiner Abhandlung „Erforschung der alkoholischen Gärung“ auf Grund von Versuchen zu dem Ergebnis, daß die alkoholische Gärung ein pathologischer Fall in der Ernährung des Hefepilzes sei, hervorgerufen infolge anomaler Zusammensetzung der Nährflüssigkeit. Derselbe verhält sich durchaus verneinend zur Existenz des Alkoholenzymes und weist dieselbe mit der wenig schmeichelhaften Bezeichnung „längst widerlegte Hypothese“ zurück.

Andere absprechende Äußerungen wollen wir übergehen.

Ist denn nun wirklich kein Fortschritt gemacht worden seit Liebig, Pasteur und Nägeli?

Es wäre gewiß ungerecht, das zu behaupten. Denn die Enzymtheorie hat erstens eine Reihe von Untersuchungen angeregt,

durch welche eine genauere Kenntnis des Gärungsvorganges erreicht wurde.

Ferner hat sie gezeigt, daß die Hefezelle als Ganzes zum Vergären von Zucker nicht nötig ist. Denn daß in dem Preßsaft Buchners noch ganze Hefezellen in solcher Zahl vorhanden seien, um darauf die Gärkraft desselben zurückzuführen, ist ausgeschlossen. Die zertrümmerte Hefezelle ist also auch noch im stande, Gärung zu bewirken.

Nicht bloß das! Diesen zertrümmerten Resten geht gewiß manche Lebenseigenschaft vollständig ab, so die Kraft, zu wachsen, sich zu vermehren, zu assimilieren etc. Es sind also wichtige Lebenskräfte geschwunden, während die Gärkraft noch da ist.

Die letztere muß also an einem besonderen, mit dem Assimilationsplasma, Vermehrungsplasma etc. nicht identischen Stoffe haften, der durch das Zerreiben der Hefezellen nicht sogleich vernichtet wird. Wir können nur nicht sagen, ob dieser Stoff eine Plasmaart oder eine Enzymart sei, ob er Organisation besitze oder nicht.

Die Frage, ob ein Gärplasma oder Gärungsenzym die Gärung verursacht, bleibt offen.

Bezüglich der Definition des Begriffes „vitalistisch“ und „Leben“, welcher der Buchnerschen Auffassung zufolge bei der Enzymtheorie wegfallen müßte, da die Enzyme „leblose Materie“ sind, steht Verf. auf dem Standpunkte, daß die Enzyme wohl als lebende Materie in gewissem Sinne bezeichnet werden können. Sie haben die aktive Proteinnatur des Plasmas, sind gegen dieselben Schädlichkeiten und Gifte empfindlich wie das Protoplasma etc. Durch den Nichtbesitz einer spezifischen Organisation allein unterscheiden sie sich von dem Protoplasma; leider sind die Mittel, innere Organisation oder Fehlen derselben nachzuweisen, noch sehr unzulänglich.

Autoreferat.

Meyer, A., Orientierende Untersuchungen über Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volutins. (Bot. Zeitung. Jahrg. LXII. 1904. p. 113—152.)

Unter Leitung des Verf. hatte Grimme (Diss. Marburg. 1902) festgestellt, daß gewisse körnchenartige Einschlüsse der Bakterien, die Volutanskugeln, eine Art Reservestoff darstellen, der als Volutin bezeichnet wurde. Die näheren Untersuchungen M.s ergaben, daß in den Pflanzen eine Reihe verschiedenartiger Volutinkörnchen vorkommen, die aber so weit übereinstimmende charakteristische Reaktionen zeigen, daß sie — wie Fette, Zuckerarten, Stärke — unter dem gemeinschaftlichen Namen Volutin zusammengefaßt werden können. Als Typus dieser Substanz werden die Volutanskugeln der Bakterien betrachtet. Das Bakteriovolutin ist färbbar mit Methylenblau + 1-proz. Schwefelsäure, Methylenblau - Jodjodkalium - Natriumkarbonat, Karbolfuchsin + 1-proz. Schwefelsäure; löslich in siedendem Wasser, Eau de Javelle, Chloralhydrat; wird durch Härtung mit Formol in Wasser unlöslich und gibt noch eine Reihe anderer, weniger wichtiger Reaktionen. Es

ist möglich, daß das Volutin zu den Eiweißkörpern gehört und eine relativ große Menge Nukleinsäureverbindungen enthält. Morphologisch sind die Körnchen wenig charakterisiert. Sie sind meist rundlich, selten abgeflacht. Abgesehen von den doppelbrechenden Diatomeenkörnern, scheinen sie aus zähflüssiger Substanz zu bestehen. Daß die Volutinkörner Reservestoffe sind, geht daraus hervor, daß sie z. B. bei den Bakterien in den Keimstäbchen fehlen, später zugleich mit typischen Reservestoffen (Fett, Glykogen) auftreten, vor der Sporenbildung das Maximum der Speicherung erreichen und während der Sporenentwicklung ähnlich wie Fett und Glykogen verbraucht werden. Sie liegen meist im Cytoplasma, selten in größeren oder kleineren Vakuolen, in denen sie dann lebhaft Brownsche Molekularbewegungen ausführen. Nur bei einigen Algen, *Coleochaete* und *Mougeotia*, finden sie sich im Chloroplasten und fehlen im Cytoplasma vollständig. Hier scheint also das Volutin in den Chromatophoren zu entstehen. Natürlich kann ein Körper, der als Reservestoff dient, zeitweise in einer Pflanze fehlen, was bei der Beurteilung der vorläufigen Orientierung über die Verbreitung des Volutins im Pflanzenreiche zu beachten ist. Bis jetzt hat sich ergeben, daß das Volutin in den meisten niederen Pflanzen vorkommt, dagegen bei den Archegoniaten, Gymnospermen und Angiospermen fehlt. Am weitesten verbreitet ist es bei den Bakterien und Pilzen, und bei letzteren besonders häufig bei den Ascomyceten, Saccharomyceten und Ustilagineen. Unter den Algen ließ sich Volutin nachweisen bei vielen Schizophyceen und Diatomeen (doppelbrechende Körner), bei einigen Desmidiaceen, Zygnemaceen, Volvocaceen, Tetrastromataceen, Coleochaetaceen, Ectocarpaceen und Rhodophyceen.

E. Hannig (Straßburg).

Blakeslee, A. F., Sexual reproduction in the Mucorineae. (Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences. Vol. XL. 1904. No. 4. Contributions from the cryptogamic laboratory of Harvard University LVIII.)

Verf. beweist, daß die Bildung der Zygosporien bei den Mucorineen in erster Linie bedingt ist durch die innere Natur der Individuen, und erst sekundär durch äußere Einflüsse. Er teilt die Mucorineen nach der Gesetzmäßigkeit, welcher die Zygosporienbildung untersteht, in zwei große Gruppen ein, welche er homothallisch und heterothallisch nennt. Die erste, homothallische, Gruppe ist dadurch charakterisiert, daß Zygosporien von Zweigen eines und desselben Thallus gebildet werden können; man kann demnach Zygosporien erhalten, wenn das aus einer Spore entstandene Mycel den der Zygosporienbildung günstigen Bedingungen ausgesetzt wird. Hierher gehört die kleinere Anzahl der Mucorineen, z. B. *Sporodinia grandis*, *Spinellus fusiger*, *Zygorrhynchus Mölleri* u. a. Man könnte die Vertreter dieser Gruppe mit den Hermaphroditen unter den höheren Pflanzen vergleichen.

Die zweite, heterothallische, Gruppe hingegen, welche wahrscheinlich die Mehrzahl der Mucorineen umschließt, z. B. *Mucor*

mucedo, *Rhizopus nigricans*, *Phycomyces niteus* u. a., könnte mit den diözischen höheren Pflanzen verglichen werden, insofern, als zur Bildung der Zygospora stets zwei Mycelien von verschiedenem Charakter und Ursprung nötig sind. Ein Mycel, welches aus einer Spore entstanden ist, wird also niemals im stande sein, Zygosporen zu bilden, selbst wenn die für die Cygosporenbildung erforderlichen äußeren Bedingungen gegeben sind. Jede heterothallische Art setzt sich demnach aus zwei verschiedenen Stämmen zusammen, durch deren Vereinigung eine Zygospora entsteht. Diese geschlechtlich differenzierten Stämme zeigen in der Regel auch eine mehr oder weniger deutliche Differenzierung hinsichtlich ihrer vegetativen Entwicklung. Die üppiger entwickelte Form bezeichnet Verf. als (+), die weniger üppige als (—). Außerdem fand Verf. unter den heterothallischen Arten Formen, welche weder mit der (+)-, noch mit der (—)-Form einer und derselben Art Zygosporen zu bilden im stande sind, und welche er deshalb als „neutral“ bezeichnet. Bei allen Arten beider Gruppen, deren Konjugation sorgfältig beobachtet wurde, konnte festgestellt werden, daß die Progameten, welche die Zygospora liefern, nicht gegeneinander wachsen, wie gewöhnlich angenommen wird, sondern ihre Entstehung dem Kontakt mehr oder weniger differenzierter Hyphen verdanken. In einigen Fällen wurde sogar eine gegenseitige Anziehung dieser Hyphen beobachtet. Bei den homothallischen *Mucorineen* unterscheidet Verf. noch eine heterothallische Unterabteilung (mit *Zygorrhynchus* und *Dicranophora*), welche dadurch charakterisiert ist, daß eine deutliche und konstante Differenzierung besteht zwischen den die Zygosporen liefernden Hyphen (Zygosporophoren); bei sämtlichen anderen Arten (sowohl homothallisch als auch heterothallisch) fehlt eine derartige Differenzierung.

Bastardierung findet statt zwischen geschlechtlich ungleichen Formen verschiedener heterothallischer Arten (innerhalb einer und derselben oder verschiedener Gattungen), sowie zwischen einer homothallischen Art und beiden Formen einer heterothallischen Art.
Neger (Eisenach).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Hoffmann, Ein neues Klärverfahren für städtische Abwässer mit gleichzeitiger Fettgewinnung. (Mitteil. d. deutsch. landw. Ges. 1904. Stück 16.)

Verf. weist auf die große Bedeutung der Rückgewinnung des Fettes aus den städtischen Kanalwässern hin. Diese besteht nicht nur darin, daß ein so wertvolles Produkt, wie das Fett es ist, zürückerhalten wird, sondern auch darin, daß die von Fett befreiten landwirtschaftlich — zur Berieselung — verwerteten Abwässer den Boden nicht derartig mechanisch verschlechtern und für das Pflanzenwachstum ungeeignet machen wie die fetthaltigen. H. beschreibt das neuerdings bekannt gewordene *Kremersche* Verfahren zur Rückgewinnung des Fettes aus Spüljauche und bespricht nach

eingehender, durch Abbildungen ergänzter Beschreibung der in Betracht kommenden Apparate die auf dem Rieselgut Osdorf bei Berlin erzielten günstigen Resultate.

Die Vorteile des Verfahrens faßt Kremer in folgende Punkte zusammen:

1) In erster Linie bietet das Verfahren den finanziellen Vorteil, daß durch dasselbe ein so wertvolles Produkt gewonnen wird, wie das Fett es ist.

2) Die Anlagekosten sind niedriger als diejenigen bei jedem anderen Verfahren, da 12 Apparate genügen, um eine gute Vorklärung für die Abwässer einer Stadt von 100 000 Einwohnern zu erreichen, während mit 20 solcher Apparate bei dem sogenannten intermittierenden Betriebe eine Klärung erzielt wird, welche derjenigen großer Klärbecken annähernd gleichkommt.

3) Die Betriebskosten sind sehr viel billiger, nötig ist nur eine täglich zweimalige Entfernung der Fettschicht. 12 Apparate kann ein einziger Arbeiter bedienen, für 20 Apparate genügen 3 Leute.

4) Sowohl die sich nach oben ansammelnde Fettschicht als auch die sich nach dem Schlickfänger zentralisierenden Bodensätze können in solch wasserarmem Zustande gewonnen werden, daß die betreffenden Materialien sofort in Formen gebracht werden können.

5) Zur Aufstellung der Apparate ist nur ein kleines Gebäude erforderlich.

6) Die Rückstände bei der Fettextraktion bieten bei etwa 5 Proz. Stickstoff einen wertvollen Dünger.

7) Vom hygienischen Standpunkte aus kann noch hervorgehoben werden, daß die Entfernung der festen Stoffe in der beabsichtigten Weise: Verarbeitung der oberen Schicht auf Fett und Verbrennung der Bodensätze, hygienisch einwandfrei ist, um so mehr als diese Entfernung durch die entsprechenden Einrichtungen so durchgeführt werden kann, daß die Arbeiter weder mit Fingern noch mit Kleidern mit den Stoffen in Berührung zu kommen brauchen.

8) Es werden durch das Verfahren vor allem die Schwimmstoffe möglichst vollkommen beseitigt und so verhütet, daß die Stoffe auf der Oberfläche auch guter Vorfluter wieder zum Vorschein kommen und sich an den Ufern dieser Vorfluter ablagern.

9) Daß bei dem Verfahren die Abwässer in kaum $\frac{1}{4}$ Stunde so weit gereinigt werden können, daß sie, den derzeitigen Anforderungen der Regierungen entsprechend, sogar in sehr gute Vorfluter abgeleitet werden dürfen, dürfte vom hygienischen Standpunkte ebenfalls denjenigen Verfahren gegenüber, bei welchen diese Klärung sehr viel länger dauert und infolgedessen bereits Fäulnis eintritt, als ein Vorzug angesehen werden, da das nach dem Verfahren geklärte Wasser, noch ehe es in merkliche Fäulnis übergegangen ist, dem guten Vorfluter überwiesen werden kann, in welchem infolge der starken Verdünnung jede weitere Fäulnis ausgeschlossen ist.

Vogel (Posen).

Moritz und Scherpe, Ueber die Bodenbehandlung mit Schwefelkohlenstoff und ihre Einwirkung auf das Pflanzenwachstum. (Arb. a. d. biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. am kais. Ges.-Amte. Bd. IV. Heft 2. p. 123—156.)

Die Verff. suchten festzustellen, ob die bekannte günstige Einwirkung des CS_2 auf das Pflanzenwachstum auf eine rein chemische Beeinflussung (Aufschließung) der Bodenbestandteile oder auf die Förderung bestimmter biologischer Vorgänge im Boden zurückzuführen ist, oder ob schließlich die Kochsche Annahme zutrifft, daß der CS_2 als ein Reizmittel auf die Pflanzen einwirkt.

Die chemische Prüfung des Bodens vor und nach der Behandlung mit CS_2 ergab, daß eine geringe Umbildung von CS_2 in Schwefelsäure stattgefunden hatte. Diese war 6—12 Wochen nach Zugabe des CS_2 zum Boden deutlich durch die quantitative Bestimmung nachzuweisen, nach 5 Monaten trat die Schwefelsäurevermehrung nicht mehr so deutlich zu Tage, wahrscheinlich deshalb, weil bei dem geringen Absorptionsvermögen des Ackerbodens für Sulfate ein Teil derselben in tiefere Schichten des Untergrundes gespült worden war. Es handelte sich nun darum, festzustellen, ob die aus CS_2 sich bildende Schwefelsäure auf die Phosphate des Bodens eine aufschließende Wirkung ausübt, ob demnach die Menge der für die Pflanzen verfügbaren löslichen Phosphorsäure nach der CS_2 -Behandlung des Bodens eine Zunahme erfährt. Durch zahlreiche quantitative Bestimmungen der in 1-proz. Zitronensäure löslichen Phosphorsäure vor und nach der CS_2 -Behandlung konnte der Beweis für eine aufschließende Wirkung der Schwefelsäure nicht erbracht werden.

Anbauversuche in den Jahren 1900 und 1901 mit Kartoffeln und Roggen auf Parzellen, welche 25—400 g CS_2 pro Quadratmeter (1901 sogar 516 g) erhalten hatten, führten zu dem Ergebnis, daß eine mehrere Monate vor der Aussaat vorgenommene CS_2 -Behandlung eine Ertragssteigerung bei diesen Früchten herbeiführt, deren Größe im allgemeinen im Verhältnis zur eingegebenen Menge CS_2 steht. Der fördernde Einfluß des CS_2 ist wahrscheinlich auf Aenderungen der Ernährungsverhältnisse zurückzuführen, es mußte jedoch nach diesen Versuchen noch unentschieden bleiben, ob die mineralischen Nährstoffe den Pflanzen zugänglicher werden oder ob eine reichlichere Stickstoffernährung eintritt.

Die im folgenden Jahre fortgeführten Vegetationsversuche sollten eine Entscheidung dieser Frage ermöglichen, und zwar durch entsprechende Aenderungen in der Stickstoff- und Kali-Phosphorsäuredüngung der einzelnen Versuchsreihen. Die Zugabe des CS_2 erfolgte Anfang Dezember 1901 in Mengen von 80, 160, 240, 320 und 480 g pro Quadratmeter. Im Frühjahr wurden die Parzellen mit Kartoffeln bzw. Sommerroggen bestellt. In allen Fällen konnte eine günstige, sich bis auf das 3. Jahr erstreckende Nachwirkung des CS_2 konstatiert werden. Außerdem sprachen die Versuchsergebnisse dafür, daß durch den CS_2 sowohl eine Förderung der Stickstoff- als auch der Mineralstoffernährung eintritt. Die letztere Erscheinung ist wahrscheinlich so zu erklären, daß durch

Einwirkung der durch Oxydation des CS_2 entstandenen Schwefelsäure auf die Bodenbestandteile die Versorgung der Pflanzen mit Phosphorsäure und Kali erleichtert wird. Die wesentliche Ursache der Vegetationsförderung durch CS_2 sehen die Verff. jedoch in Uebereinstimmung mit Hiltner in einer ganz bestimmten Beeinflussung der Bakterienflora des Bodens und einer dadurch herbeigeführten Förderung der Stickstoffernährung.

Als entscheidender Beweis für diese Auffassung wird das Ergebnis eines Versuches in Vegetationsgefäßen mitgeteilt, bei welchem CS_2 Gelegenheit hatte, auf sterilisierten und nicht sterilisierten Boden einzuwirken. Die Erträge des in den Gefäßen angepflanzten Winterroggens wurden nur in der nicht sterilisierten Erde durch CS_2 erhöht, auf sterilisiertem Boden vermochte der CS_2 eine ertragssteigernde Wirkung nicht mehr auszuüben. Die Verff. schließen daher, „daß die durch CS_2 hervorgebrachte Ertragssteigerung in erster Linie auf die, eine Stickstoffquelle erschließende Tätigkeit von Mikroorganismen zurückzuführen ist“.

(Die von den Verff. mitgeteilten Zahlen zwingen jedoch keineswegs zu einer solchen Annahme. Die Menge der geernteten Trockensubstanz betrug nämlich [Mittel von je 4 Versuchen]:

	sterilisiert	ohne CS_2	9,44 g
		mit „	8,58 „
nicht	„	ohne „	4,91 „
		mit „	8,74 „

Durch das bloße Sterilisieren sind also so viel Nährstoffe erschlossen worden, daß der Ertrag von 4,91 auf 9,44 g anstieg. Es ist sehr wohl möglich, daß der CS_2 in einer an löslichen Pflanzennährstoffen dermaßen angereicherten Erde eine weitere Ertragssteigerung überhaupt nicht mehr hervorzubringen vermag. Ref.)

Vogel (Posen).

Hillmann, Die Verwendung von Streupulvern zur Bekämpfung des Hederichs im Vergleich zu der Bespritzung mit Salzlösung. (Mitteil. d. deutsch. landw. Ges. 1904. Stück 13.)

Nachdem die Wertlosigkeit verschiedener zur Unkrautvertilgung empfohlener Streupulver infolge ihres zu geringen Gehaltes an Eisensulfat bereits früher erkannt worden war, unterzog Verf. das von Dr. Guichard, Besitzer der chemischen Fabrik Burg bei Magdeburg, unter dem Namen „Unkraut-Tod“ in den Handel gebrachte, aus reinem, calciniertem Eisenvitriol bestehende Präparat einer Prüfung in Bezug auf seine Wirksamkeit im Vergleich zur Bespritzung mit Eisensulfatlösung und mit Rücksicht auf die Kosten und die Einfachheit der Bestäubung gegenüber der Bespritzung.

Als Versuchspflanze diente weißer Senf zu der Zeit, wo er bereits das 7. bis 8. Blatt zeigte und wo er sich nach früheren Erfahrungen zu vergleichenden Beobachtungen besonders brauchbar erweist. Das Streupulver kam in Mengen von 40—100 kg pro Hektar zur Anwendung und wurde entweder mit dem bekannten

Verstäuber „Vulkan“ oder auch, bei besonderen Versuchen, mit der Hand gestreut. Die 15- und 20-proz. Ferrosulfatlösungen wurden mit der Deidesheimer Rebspritze verteilt. Es ergab sich, daß die Verstäubung des Pulvers nicht gleichmäßig genug gelingt und daß es auch dann, wenn bedeutend größere Mengen, als sie von Dr. Guichard empfohlen werden, zur Anwendung kommen, niemals dieselbe befriedigende Wirkung wie eine Eisensulfatbespritzung hervorbringt.

Auch die Kosten der Bespritzung waren geringer wie diejenigen der Verstäubung. Die letztere verursachte z. B. bei einem Versuche einen Kostenaufwand von 3,06 Mk. pro Morgen, während die Bespritzung nur 2,67 Mk. kostete.

Trotzdem hält Verf. das Guichardsche Mittel, welches zweifellos viel besser als die früheren Streupulver wirkt, in manchen Fällen für brauchbar. Er bleibt im allgemeinen bei seinem früheren Urteil, die Hederichbespritzungsmethode mit 15–20-proz. Eisenvitriollösung, 600–900 l Flüssigkeit auf 1 ha, enthaltend 90–180 kg Eisenvitriol, den Landwirten nach wie vor in erster Reihe zu empfehlen und nur zur Ergänzung in zweiter Reihe Dr. Guichards „Unkraut-Tod“.

Vogel (Posen).

Trübenbach, Zur Vertilgung der Quecke. (Deutsche landw. Presse. 1904. No. 34.)

Verf. empfiehlt als zweckmäßigstes Verfahren zur Vertilgung der Quecken auf leichtem Boden — und dieser kommt hier in erster Linie in Betracht — eine bestimmte Art der Bodenbearbeitung. Durch systematisches Eggen, Exstirpieren und flaches Schälen werden die über die Erde gesandten Sprossen des Unkrautes zerstört und auch der Erdstamm der Quecken schließlich geschwächt und vollkommen vernichtet. Bei diesem Verfahren gelingt die Reinigung der Felder sicher, die Unkrautpflanzen verbleiben mit den in ihnen enthaltenen wertvollen Nährstoffen dem Ackerlande und letzteres nimmt eine für die weitere Bearbeitung günstige Beschaffenheit an, indem die oben aufliegende, gelockerte und abgetrocknete Schicht die Verdunstung aus dem Boden herabsetzt und dadurch eine stärkere Durchfeuchtung der darunterliegenden Partien bewirkt wird.

Verf. erwähnt die wichtigsten, von anderer Seite empfohlenen Methoden zur Queckenvertilgung, besonders auch diejenigen Verfahren, welche durch Anbau stark beschattender Pflanzen die Quecke zu unterdrücken suchen, wie z. B. das Buchweizen-Senfgemenge von Danger-Neuhof oder die von Ring-Düppel empfohlene Mischung von Lupinen und Senf. T. hält diese an sich ausgezeichneten Methoden für zu teuer, da dadurch die ganze Rente eines Jahres verloren geht. Das gleiche gilt — immer vorausgesetzt, daß es sich um leichte Sandböden, die eigentlichen Herbergen der Quecken, handelt — auch für die Brache. Bei schweren Tonböden ist dieselbe dagegen das beste und sicherste Mittel zur Vertilgung der Quecken und anderer Unkräuter.

Vogel (Posen).

Corrigendum.

In Bd. XIII. Abt. II. p. 378 ist zu lesen Gordan statt Gordau.

Inhalt.

Originalreferate aus bakteriolog. und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Aus der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München.

Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Schluß), p. 545.

Will, H. und **Braun, R.**, Vergleichende Untersuchungen einiger in den letzten Jahren für den Brauereibetrieb empfohlenen Desinfektionsmittel. II. Mitteilung, p. 552.

Referate.

Blakeslee, A. F., Sexual reproduction in the Mucorineae, p. 570.

Bokorny, Th., Ueber die Ausgestaltung der Gärungstheorie bis zur Gegenwart, p. 565.

Ehrenberg, Paul, Die bakterielle Bodenuntersuchung in ihrer Bedeutung für die Feststellung der Bodenfruchtbarkeit, p. 555.

Godlewski, E., Vergärung von Zucker durch Pflanzensamen, p. 562.

Gordan, Bakteriologische Untersuchungen zur Beurteilung von Kleinen nach ihrer Neigung zur Schimmelbildung (Keimkastenmethode), p. 561.

—, Ueber Kleiefütterungsversuche an weißen Mäusen mit tödlichem Ausgange, p. 561.

Keutner, Ueber das Vorkommen und die Verbreitung stickstoffbindender Bakterien im Meere, p. 554.

Koch, Alfred, Bodenbakteriologische Forschungen und ihre praktische Bedeutung, p. 556.

Loew, Oskar, Ueber den Zusammenhang zwischen Labilität und Aktivität bei den Enzymen, p. 563.

Meyer, A., Orientierende Untersuch-

ungen über Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volutins, p. 569.

Nobbe, F. und **Richter, L.**, Ueber den Einfluß des im Kulturboden vorhandenen assimilierbaren Stickstoffs auf die Aktion der Knöllchenbakterien, p. 559.

v. Seelhorst, Freckmann und Banger, Untersuchungen über den Einfluß der Feuchtigkeit des Bodens auf das Wachstum, den Wasserverbrauch und die Stickstoffsammlung verschiedener Lupinenarten, p. 558.

Sestini, Bildung von salpetriger Säure und Nitrifikation als chemischer Prozeß im Kulturboden, p. 559.

Teichert, Bakteriologisch-chemische Studien über die Butter in der Provinz Posen mit besonderer Berücksichtigung der Tuberkelbacillen, p. 560.

Wahl, R. und **Nilson, A.**, Säurebildung durch Bakterien und die Funktionen der Peptase während des Keimens und Maischens, p. 560.

Wimmer, G., Beitrag zur Kenntnis der Nitrifikationsbakterien, p. 557.

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Hillmann, Die Verwendung von Streupulvern zur Bekämpfung des Hedeichs im Vergleich zu der Bespritzung mit Salzlösung, p. 574.

Hoffmann, Ein neues Klärverfahren für städtische Abwässer mit gleichzeitiger Fettgewinnung, p. 571.

Moritz und Scherpe, Ueber die Bodenbehandlung mit Schwefelkohlenstoff und ihre Einwirkung auf das Pflanzenwachstum, p. 573.

Trübenbach, Zur Vertilgung der Quecke, p. 575.

Corrigendum p. 576.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D.C., U.S.A., Prof.
Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr.
Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W.50, Schaperstr. 2/3 I.
und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XIII. Band.

Jena, den 26. November 1904.

No. 19/20.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Atmung und alkoholische Gärung der Mucoraceen.

Von **S. Kostytschew.**

Mit 8 Kurven im Text.

(Schluß.)

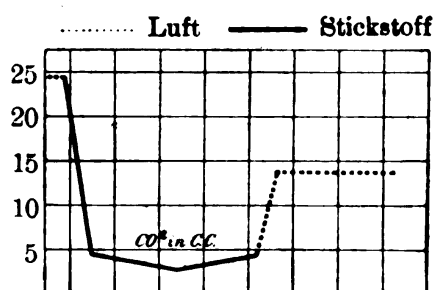
Mikroskopische Untersuchung: Dasselbe Resultat wie im Versuch XI. Der Gang des Versuches ist durch die Kurve V dargestellt worden.

Bei *Mucor mucedo* ist $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ immer etwas > 1 ; eine vollständige Verbrennung des Zuckers findet also nicht statt. Die CO_2 -

Zweite Abt. Bd. XIII.

37

Produktion bei Luftabschluß ist zwar geringer als bei Luftzutritt, doch hat ihre Kurve einen eigentümlichen, etwas gärungsartigen Charakter. Im Beginn der Stickstoffperiode findet eine Abnahme, später aber wieder Zunahme der CO_2 -Ausscheidung statt; es hat



Kurve V. *Mucor mucedo*.

den Anschein, als ob eine Anpassung an die anaëroben Lebensverhältnisse eintritt. Gelangt nun die Kultur wieder in die Luft, so kommt ein Aufschwung der CO_2 -Bildung zum Vorschein; am 2. Tage nach der Stickstoffperiode hat die CO_2 -Produktion schon wieder ihre ursprüngliche Intensität erreicht (dies trifft bei *Mucor stolonifer* nie zu). Wird aber Sauerstoff einer Kultur zur Ver-

fügung gestellt, welche sich in der Periode minimaler anaërober CO_2 -Ausscheidung befindet (Versuch XIII), so tritt eine merkwürdige Erscheinung hervor, der Aufschwung der CO_2 -Produktion ist unbedeutend. Es steht also die Annahme nahe, daß zwischen dem aëroben und dem anaëroben Gaswechsel ein gewisser Zusammenhang besteht. Auf Grund aller dieser Ergebnisse können wir schließen, daß *Mucor mucedo* zwar ein gärungserregender Organismus ist, doch sind bei ihm auch oxydierende Vorgänge stark entwickelt. Bei Sauerstoffzutritt ist die größte Menge der ausgeschiedenen CO_2 auf den Atmungsakt zu beziehen; somit nimmt dieser Organismus eine Mittelstellung zwischen den typischen Aëroben und den Gärungserregern ein.

Versuch XIV.

Eine 3-tägige Kultur von *Mucor racemosus*. Gesamtgasvolumen 166 ccm. Temp. 16–18°.

I. Luftperiode 1½ Stunden.

Gasanalyse: CO_2 4,89 Proz.
 O_2 18,36 „
 in. G. 76,75 „

CO_2 2,72
 O_2

CO_2 7,5 ccm. E 50,1

1½ Stunden im Stickstoffstrome.

II. Stickstoffperiode 1½ Stunden.

Gasanalyse: CO_2 4,81 Proz.
 N_2 95,19 „

CO_2 7,4 ccm. E 42,3

Die Kultur blieb 20 Stunden in einer sauerstofffreien Atmosphäre eingesperrt; alsdann war sie 1 Stunde lang im Stickstoffstrome.

III. Stickstoffperiode 2¾ Stunden.

Gasanalyse: CO_2 7,15 Proz.
 N_2 92,75 „

CO_2 11,3 ccm. E 41,1

26 Stunden in sauerstofffreier Atmosphäre; alsdann 1 Stunde im Stickstoffstrome.

IV. Stickstoffperiode 2 Stunden.

Gasanalyse: CO₂ 7,36 Proz.

N₂ 92,64 „

CO₂ 11,5 ccm. E 57,5

15 Stunden in sauerstofffreier Atmosphäre; alsdann 1 Stunde im Stickstoffstrom.

V. Stickstoffperiode 2 1/2 Stunden.

Gasanalyse: CO₂ 5,87 Proz.

N₂ 94,33 „

CO₂ 8,8 ccm. E 35,2

23 Stunden in sauerstofffreier Atmosphäre; alsdann 1 Stunde im Stickstoffstrom.

VI. Stickstoffperiode 2 Stunden.

Gasanalyse: CO₂ 4,46 Proz.

N₂ 95,54 „

CO₂ 6,8 ccm. E 34,0

40 Minuten im Luftstrom.

VII. Luftperiode 1 1/2 Stunden.

Gasanalyse: CO₂ 4,38 Proz.

O₂ 19,10 „

in. G. 76,52 „

CO₂ 4,38

O₂

CO₂ 6,4 ccm. E 43,0

15 1/2 Stunden im Luftstrom.

VIII. Luftperiode 1 3/4 Stunden

Gasanalyse: CO₂ 4,89 Proz.

O₂ 18,56 „

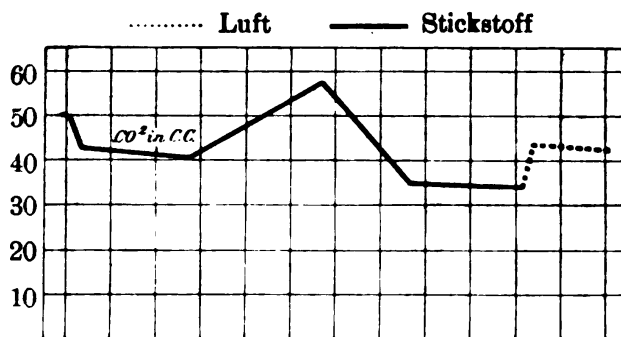
in. G. 76,55 „

CO₂ 3,18

O₂

CO₂ 7,3 ccm. E 41,9

Die mikroskopische Untersuchung ergab, daß die Kultur zum größten Teile aus kugeligen, hefeartigen Bildungen besteht. Der Gang des Versuches ist durch die Kurve VI dargestellt worden:



Kurve VI. *Mucor racemosus*.

Versuch XV.

Eine 3-tägige Kultur von *Mucor racemosus*. Gesamtgasvolumen 157 ccm. Temperatur 16,5—18°.

I. Luftperiode 1 1/4 Stunden.

Gasanalyse: CO₂ 5,02 Proz.

O₂ 18,02 „

in. G. 76,96 „

CO₂ 2,30

O₂

CO₂ 7,4 ccm. E 42,3

1 1/4 Stunden im Stickstoffstrom.

II. Stickstoffperiode 2 Stunden.

Gasanalyse: CO₂ 4,94 Proz.

N₂ 95,06 „

CO₂ 6,9 ccm. E 34,5

20 Stunden in der sauerstofffreien Atmosphäre; alsdann 1 Stunde im Stickstoffstrom.

III. Stickstoffperiode $2\frac{3}{4}$ Stunden.Gasanalyse: CO_2 6,87 Proz. N_2 93,13 „ CO_2 10,4 ccm. E 37,8

26 Stunden in der sauerstofffreien Atmosphäre; alsdann 1 Stunde im Stickstoffstrom.

IV. Stickstoffperiode 2 Stunden.

Gasanalyse: CO_2 6,98 Proz. N_2 93,02 „ CO_2 10,4 ccm. E 52,0

15 Stunden in der sauerstofffreien Atmosphäre; alsdann 1 Stunde im Stickstoffstrom.

V. Stickstoffperiode $2\frac{1}{2}$ Stunden.Gasanalyse: CO_2 6,02 Proz. N_2 93,98 „ CO_2 8,8 ccm. E 35,3

23 Stunden in der sauerstofffreien Atmosphäre; alsdann 1 Stunde im Stickstoffstrom.

VI. Stickstoffperiode 2 Stunden.

Gasanalyse: CO_2 5,06 Proz. N_2 94,94 „ CO_2 7,3 ccm. E 36,5

40 Minuten im Luftstrom.

VII. Luftperiode $1\frac{1}{2}$ Stunden.Gasanalyse: CO_2 4,57 Proz. O_2 18,98 „

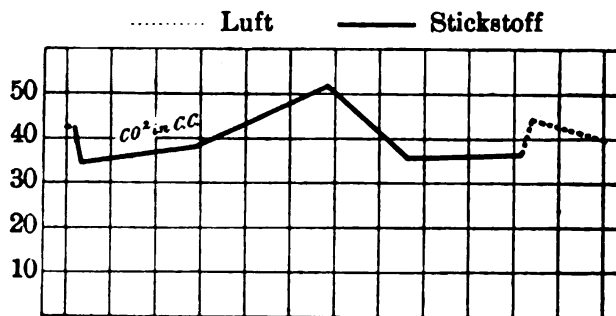
in. G. 76,45 „

 CO_2 4,15
 O_2 CO_2 6,6 ccm E 43,8. $15\frac{1}{2}$ Stunden im Luftstrom.VIII. Luftperiode $1\frac{3}{4}$ Stunden.Gasanalyse: CO_2 4,78 Proz. O_2 18,37 „

in. G. 76,85 „

 CO_2 2,64
 O_2 CO_2 6,9 ccm E 39,5.

Die mikroskopische Untersuchung ergab dasselbe Resultat wie im Versuch XIV. Der Gang des Versuches ist durch die Kurve VII dargestellt worden:

Kurve VII. *Mucor racemosus*.

Versuch XVI.

Eine 3-tägige Kultur von *Mucor racemosus*. Gesamtgasvolumen 174 ccm.
Temperatur 16—18°.

I. Luftperiode $1\frac{1}{4}$ Stunden.

Gasanalyse: CO_2 3,87 Proz.
 O_2 18,90 „
 in. G. 77,23 „

$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ 2,80

CO_2 6,3 ccm E 42,3.

$1\frac{1}{4}$ Stunden im Stickstoffstrom.

II. Stickstoffperiode $1\frac{1}{4}$ Stunden.

Gasanalyse: CO_2 3,81 Proz.
 N_2 96,19 „

CO_2 6,2 ccm E 41,3.

$20\frac{1}{2}$ Stunden in der sauerstofffreien Atmosphäre; alsdann 1 Stunde im Stickstoffstrom.

III. Stickstoffperiode $2\frac{1}{4}$ Stunden.

Gasanalyse: CO_2 6,63 Proz.
 N_2 93,37 „

CO_2 11,1 ccm. E 44,4

27 Stunden in der sauerstofffreien Atmosphäre; alsdann 1 Stunde im Stickstoffstrom.

IV. Stickstoffperiode 2 Stunden.

Gasanalyse: CO_2 6,16 Proz.
 N_2 93,84 „

CO_2 10,1 ccm E 50,5

15 Stunden in der sauerstofffreien Atmosphäre; alsdann 1 Stunde im Stickstoffstrom.

V. Stickstoffperiode $2\frac{1}{4}$ Stunden.

Gasanalyse: CO_2 5,22 Proz.
 N_2 94,78 „

CO_2 8,4 ccm. E 37,2

40 Minuten im Luftstrom.

VI. Luftperiode $1\frac{1}{4}$ Stunde.

Gasanalyse: CO_2 3,78 Proz.
 O_2 18,77 „
 in. G. 77,45 „

$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ 2,41

CO_2 6,1 ccm. E 48,5

$24\frac{1}{2}$ Stunden im Luftstrom.

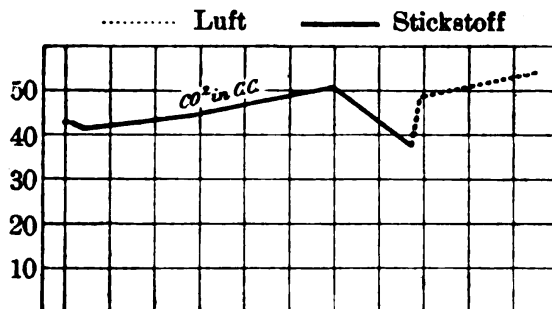
VII. Luftperiode $1\frac{1}{4}$ Stunden.

Gasanalyse: CO_2 6,03 Proz.
 O_2 17,20 „
 in. G. 76,77 „

$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ 2,04

CO_2 9,5 ccm. E 54,3

Die mikroskopische Untersuchung ergab dasselbe Resultat wie in Versuch XIV. Der Gang des Versuches ist durch die Kurve VIII dargestellt worden:



Kurve VIII. *Mucor racemosus*.

Der Gaswechsel von *Mucor racemosus* hat also auch bei normaler Aëration einen deutlich ausgesprochenen gährungsartigen Charakter; bei Sauerstoffabschluß ist die CO_2 -Produktion beinahe ebenso ausgiebig, wie bei Sauerstoffzutritt; die Kurve der anaëroben CO_2 -Ausscheidung hat den eigentümlichen gährungsartigen Charakter. Obschon die oxydierenden Vorgänge bei diesem Pilze nicht ganz unbeträchtlich sind, müssen wir dennoch annehmen, daß sein Betriebswechsel demjenigen der typischen Gärungserreger sehr ähnlich ist.

Durch die beschriebenen Versuche ist festgestellt worden, daß die untersuchten *Mucor*-Arten zu drei verschiedenen physiologischen Typen gehören; gleichzeitig hat es sich herausgestellt, daß nicht bloß die alkoholische Gärung der Hefe durch Sauerstoff nicht unterdrückt wird, sondern auch die alkoholische Gärung der gährungsfähigen *Mucoraceen* durch Sauerstoffzutritt ebenfalls zum Stillstand gebracht wird, obschon die oxydierenden Vorgänge bei den *Mucoraceen* ziemlich stark entwickelt sind¹⁾.

Ein Aufschwung von $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ nach der Stickstoffperiode findet auch bei *Mucor racemosus* statt. Von einer Erklärung dieser Erscheinung soll einstweilen abgesehen werden, doch darf man vermuten, daß sie zu unserer noch so unzureichenden Kenntnis der Betriebsprozesse später etwas beibringen wird. Vor allem wäre es von Interesse, zu erforschen, in wie weit diese Erscheinung allgemein verbreitet ist, ob sie z. B. auch bei der Hefe vorkommt²⁾.

Dritte Versuchsserie.

In meiner früher publizierten Arbeit über die Acetondauerpräparate von *Aspergillus niger*³⁾ habe ich folgende Resultate

1) Ich möchte mir die endgültige Lösung der Frage vorbehalten, ob bei *Mucor racemosus* die totale Verbrennung des Zuckers auf keinerlei Weise hervorzurufen ist.

2) Aus der soeben publizierten Arbeit von L. Petraschewsky (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. XXII. 1904. p. 323) ist ersichtlich, daß eine derartige Erscheinung bei der Alge *Chlorothecium saccharophyllum*, einer typischen Aërobe, stattfindet.

3) Kostytschew, Ber. der deutsch. bot. Gesellsch. Bd. XXII. 1904. p. 207 Diese Arbeit wurde von Prof. J. Stoklasa in der letzten Nummer der botan. Berichte (1904. Heft 7. p. 358) einer Kritik unterworfen, wobei jedoch die wahre Sachlage verkannt worden ist. Nie habe ich die Meinung ausgesprochen, daß Zymase nur in der Hefe vorhanden ist; mit dem Ausdrucke „aërobe Organismen“ wurde selbstverständlich auf die strengen Aëroben hingewiesen (die Hefe ist doch auch kein fakultativer Anaërobe); diese wurden von Stoklasa nicht untersucht, folglich ist die Ansicht von dem Vorhandensein der Zymase in allen lebenden Zellen als voreilig anzusehen. Die von Stoklasa angegebene Hypothese des Chemismus der Sauerstoffatmung wurde bereits von Wortmann (Arb. d. bot. Inst. zu Würzburg. Bd. II. p. 517—518), späterhin auch von Mazé (l. c.) und von Godlewski (l. c.) ausgesprochen. Diese interessante und schöne Hypothese ist leider bis heute durch keine experimentellen Beweise bekräftigt worden; es ist unbegreiflich, warum Stoklasa annimmt, daß durch seine Versuche dieselbe zu einer „Schlußfolgerung“ gewachsen ist. Ebenso unbegreiflich ist die Voraussetzung Stoklasas, daß mir seine Arbeiten unbekannt geblieben sind.

ermittelt: 1) $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ der Präparate ist bei ganz guter Aëration < 1 , nur bei erschwerter Aëration ist $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} > 1$. 2) Die vor dem Versuche 1 Stunde lang bei 100° getrockneten Präparate produzieren keine CO_2 bei Luftabschluß; bei Luftzutritt ist $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ von solchen Präparaten auch bei erschwerter Aëration < 1 . Auf Grund dieser Tatsachen habe ich den Schluß gezogen, daß die Tätigkeit der Präparate bei Luftzutritt sich von ihrer Tätigkeit bei Luftabschluß qualitativ unterscheidet. Es ist zwar schon im Voraus wahrscheinlich, daß die typische Zymase sich bei denselben Bedingungen anders verhält, doch muß diese Vermutung unbedingt durch Experimente geprüft werden. Es sind zwar derartige Versuche schon früher von E. Buchner¹⁾ publiziert worden, doch war dabei die Bearbeitung mit Aceton ausgeschlossen. Die weiter folgenden Versuche mit käuflichem Zymin sind nach derselben Methode ausgeführt worden, welche bei den schon publizierten Versuchen mit Acetondauerpräparaten von *Aspergillus niger* in Anwendung kam.

Versuch XVII.

2 Kolben, ein jeder mit 15 ccm 20-proz. sterilisierter Traubenzuckerlösung und 1 g Zymin²⁾ beschickt. Der Kolben A enthält gewöhnliches Zymin, der Kolben B enthält Zymin, welches zuvor 1 Stunde lang bei 100° getrocknet wurde. Gesamtgasvolumen von A 233 ccm, Gesamtgasvolumen von B 233 ccm.

I. Luftperiode 5 $\frac{1}{4}$ Stunden.

Gasanalysen:

A.	CO_2	5,67 Proz.	B.	CO_2	3,50 Proz.
	O_2	19,02 "		O_2	19,71 "
	in. G.	75,31 "		in. G.	76,79 "
	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$	7,46		$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$	7,60
	CO_2	11,5 ccm		CO_2	7,3 ccm

1 $\frac{1}{4}$ Stunden im Luftstrom.

II. Luftperiode 13 $\frac{1}{4}$ Stunden.

Gasanalysen:

A.	CO_2	10,46 Proz.	B.	CO_2	6,41 Proz.
	O_2	18,37 "		O_2	19,31 "
	in. G.	71,17 "		in. G.	74,28 "
	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$	32,7		$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$	32,0
	CO_2	22,9 ccm		CO_2	13,6 ccm

Versuch XVIII.

4 Kolben, jeder mit 15 ccm 20-proz. Traubenzuckerlösung und 1 g Zymin beschickt. A und B enthalten gewöhnliches Zymin, C und D 1 Stunde lang bei 100° getrocknetes Zymin. Gesamtgasvolumina: A 238 ccm, B 229 ccm, C 236 ccm, D 237 ccm.

1) Buchner, E., Buchner, H. u. Hahn, M., l. c. p. 251.

2) Von A. Schröder, München, Landwehrstraße 45, bezogen.

A. Luftperiode 6 1/2, Stunden.

C. Luftperiode 6 1/2, Stunden.

Gasanalysen:

CO ₂	6,38 Proz.
O ₂	18,16 "
in. G.	75,46 "
<hr/>	
CO ₂	3,84
O ₂	
CO ₂	14,0 ccm

CO ₂	2,57 Proz.
O ₂	19,74 "
in. G.	77,69 "
<hr/>	
CO ₂	3,84
O ₂	
CO ₂	5,6 ccm

B. Stickstoffperiode 6 1/2, Stunden.

D. Stickstoffperiode 6 1/2, Stunden.

Gasanalysen:

CO ₂	6,49 Proz.
N ₂	93,51 "
<hr/>	
CO ₂	13,8 ccm

CO ₂	2,92 Proz.
N ₂	97,08 "
<hr/>	
CO ₂	6,2 ccm

Nach dem Entnehmen der Gasportionen wurden die Kolben wieder eingesperrt.

A. Luftperiode 6 1/2, + 15 Stunden.

C. Luftperiode 6 1/2, + 15 Stunden.

Gasanalyse: CO ₂	16,15 Proz.
O ₂	15,99 "
in. G.	67,86 "
<hr/>	
CO ₂	8,82
O ₂	
CO ₂	35,0 ccm

Gasanalyse: CO ₂	7,31 Proz.
O ₂	18,61 "
in. G.	74,08 "
<hr/>	
CO ₂	8,60
O ₂	
CO ₂	15,1 ccm

B. Stickstoffperiode 6 1/2, + 15 Stunden.

D. Stickstoffperiode 6 1/2, + 15 Stunden.

Gasanalyse: CO ₂	17,01 Proz.
N ₂	82,99 "
<hr/>	
CO ₂	36,4 ccm

Gasanalyse: CO ₂	10,30 Proz.
N ₂	79,70 "
<hr/>	
CO ₂	21,9 ccm

Wie aus diesen beiden Versuchen ersichtlich ist, bleibt die Erwärmung des Zymins bei 100° ohne Einfluß auf $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$, obschon die CO₂-Produktion infolge des Trocknens abgeschwächt wird. Die getrockneten Präparate entwickeln bei Sauerstoffabschluß dieselbe oder vielleicht noch größere Quantität CO₂, wie bei Sauerstoffzutritt. Es besteht also ein scharfer Unterschied zwischen den Acetondauerpräparaten der Gärungserreger und denselben der oxydierenden Organismen. Die Eigentümlichkeiten der Acetondauerpräparate unserer Mucoraceen sind durch die weiter folgenden Versuche erläutert worden. Zur Gewinnung der Acetonpräparate wurde eine große Anzahl der Kulturen in den 2 l fassenden Fernbachschen Kolben auf Bierwürze gezogen ¹⁾.

Versuch XIX.

Mucor stolonifer. 2 Kolben; jeder enthält 25 ccm 20-proz. Traubenzuckerlösung und 1,5 g vom gewöhnlichen Acetondauerpräparat. Gesamtgasvolumen von A 238 ccm; Gesamtgasvolumen von B 231 ccm.

A. Luftperiode 20 Stunden.

B. Stickstoffperiode 20 Stunden.

Gasanalyse: CO ₂	2,88 Proz.
O ₂	19,17 "
in. G.	77,95 "
<hr/>	
CO ₂	2,22
O ₂	
CO ₂	6,4 ccm

Gasanalyse: CO ₂	1,51 Proz.
N ₂	98,49 "
<hr/>	
CO ₂	3,2 ccm

1) Betreffs der Darstellungsmethode der Dauerpräparate siehe meine oben zitierte Abhandlung über die Acetonpräparate von *Aspergillus niger*.

Versuch XX.

Mucor stolonifer. 2 Kolben; der Kolben A enthält 1,0 g von dem 1 Stunde lang bei 100° getrockneten Acetondauerpräparat und 25 ccm 20-proz. Traubenzuckerlösung. Gesamtgasvolumen 244 ccm. Der Kolben B enthält 1,85 g von demselben getrockneten Acetondauerpräparat und 25 ccm 20-proz. Traubenzuckerlösung. Gesamtgasvolumen 245 ccm.

A. Luftperiode 18 Stunden.		
Gasanalyse: CO ₂	0,65	Proz.
O ₂	19,92	"
in. G.	69,43	"
<hr/>		
CO ₂	0,69	
O ₂		
CO ₂	1,4	ccm

B. Stickstoffperiode 18 Stunden.
Gasanalyse: CO₂ spurenweise
vorhanden.
40 Minuten im Luftstrome.

II. Luftperiode 19 Stunden.		
Gasanalyse: CO ₂	0,40	Proz.
O ₂	20,31	"
in. G.	79,29	"
<hr/>		
CO ₂	0,78	
O ₂		
CO ₂	0,9	ccm

Versuch XXI.

Mucor stolonifer. 2 Kolben. Der Kolben enthält 1 g vom gewöhnlichen Acetondauerpräparat und 15 ccm 20-proz. Traubenzuckerlösung; Gesamtgasvolumen 236 ccm. Der Kolben B enthält 1 g vom getrockneten Präparat und 15 ccm 20-proz. Traubenzuckerlösung; Gesamtgasvolumen 228 ccm.

Luftperiode 17 Stunden.

Gasanalysen:

A. CO ₂	1,24	Proz.
O ₂	19,59	"
in. G.	79,17	"
<hr/>		
CO ₂	1,03	
O ₂		
CO ₂	2,7	ccm

B. CO ₂	0,46	Proz.
O ₂	19,98	"
in. G.	79,56	"
<hr/>		
CO ₂	0,51	
O ₂		
CO ₂	1,0	ccm

Versuch XXII.

Mucor stolonifer. 2 Kolben; der Kolben A enthält 1 g vom gewöhnlichen Präparat und 15 ccm 20-proz. Traubenzuckerlösung; Gesamtgasvolumen 235 ccm. Der Kolben B enthält 1 g vom getrockneten Präparat und 15 ccm 20-proz. Traubenzuckerlösung. Gesamtgasvolumen 245 ccm.

A. Stickstoffperiode 16 Stunden.

Gasanalyse: CO ₂	0,73	Proz.
N ₂	99,27	"
CO ₂	1,7	ccm

B. I. Stickstoffperiode 16 Stunden.

Gasanalyse: CO₂ = 0
1 Stunde im Luftstrome.

II. Luftperiode 12 Stunden.		
Gasanalyse: CO ₂	0,20	Proz.
O ₂	19,95	"
in. G.	79,85	"
<hr/>		
CO ₂	0,20	
O ₂		
CO ₂	0,5	ccm.
O ₂ absorb.	= 2,4 ccm	

Diese Versuche sprechen dafür, daß der Gaswechsel der Acetondauerpräparate von *Mucor stolonifer* eben denselben Charakter hat, wie der Gaswechsel der Acetondauerpräparate von *Aspergillus niger*, eines typischen Aëroben.

Versuch XXIII.

Mucor mucedo. 2 Kolben; jeder enthält 1,5 g vom gewöhnlichen Acetondauerpräparat und 20 ccm 20-proz. Traubenzuckerlösung. Gesamtgasvolumen von A 242 ccm. Gesamtgasvolumen von B 236 ccm.

Gasanalyse: CO ₂	2,15	Proz.
O ₂	19,27	"
in. G.	78,58	"
CO ₂	1,57	
O ₂		
CO ₂	4,9	ccm

Gasanalyse: CO ₂	1,01	Proz.
N ₂	98,99	"
CO ₂	2,3	ccm

Versuch XXIV.

Mucor mucedo. 2 Kolben. Der Kolben A enthält 1,5 g vom gewöhnlichen Präparat und 20 ccm 20-proz. Traubenzuckerlösung; Gesamtgasvolumen 236 ccm. Der Kolben B enthält 1 g vom getrockneten Präparat und 20 ccm 20-proz. Traubenzuckerlösung; Gesamtgasvolumen 239 ccm.

Luftperiode 18 Stunden.

Gasanalysen:

A. CO ₂	2,40	Proz.	B. CO ₂	0,80	Proz.
O ₂	18,88	"	O ₂	19,69	"
in. G.	78,72	"	in. G.	79,51	"
CO ₂	1,34		CO ₂	0,67	
O ₂			O ₂		
CO ₂	5,2	ccm	CO ₂	1,4	ccm

Versuch XXV.

Mucor mucedo. 2 Kolben; der Kolben A enthält 1,5 g vom gewöhnlichen Präparat und 20 ccm 20-proz. Traubenzuckerlösung; Gesamtgasvolumen 238 ccm. Der Kolben B enthält 1,5 g vom getrockneten Präparat und 20 ccm Traubenzuckerlösung; Gesamtgasvolumen 226 ccm.

Stickstoffperiode 18 Stunden.

Gasanalysen:

A. CO ₂	2,04	Proz.	B. CO ₂	0,66	Proz.
N ₂	97,96	"	N ₂	99,34	"
CO ₂	4,5	ccm	CO ₂	1,4	ccm

Versuch XXVI.

Mucor mucedo. 1 Kolben mit 1,75 g vom getrockneten Acetonpräparat und 15 ccm 20-proz. Traubenzuckerlösung. Gesamtgasvolumen 242 ccm.

Stickstoffperiode 15 Stunden.

Gasanalyse: CO ₂	0,42	Proz.
N ₂	99,58	"
CO ₂	0,9	ccm

Der Gaswechsel der Acetondauerpräparate von *Mucor mucedo* hat also keinen typischen gährungsartigen Charakter; nur wird die anaerobe CO₂-Ausscheidung der Präparate durch 1-stündiges Trocknen bei 100° nicht zum Stillstand gebracht.

Bei den weiter folgenden Versuchen mit *Mucor racemosus* bestanden die Acetondauerpräparate zum größten Teil aus kugligen, hefeartigen Bildungen.

Versuch XXVII.

Mucor racemosus. 2 Kolben; der Kolben A enthält 1 g vom gewöhnlichen Acetondauerpräparat und 15 ccm 20-proz. Traubenzuckerlösung; Gesamtgasvolumen 223 ccm. Der Kolben B enthält 1 g vom getrockneten Acetondauerpräparat und 15 ccm 20-proz. Traubenzuckerlösung; Gesamtgasvolumen 231 ccm. Die Aëration in beiden Kolben ist eine vollkommene.

Luftperiode 13 Stunden.

Gasanalysen:

A. CO ₂	1,58	Proz.	B. CO ₂	1,21	Proz.
O ₂	20,27	"	O ₂	20,41	"
in. G.	78,15	"	in. G.	78,38	"
CO ₂	6,32		CO ₂	7,12	
O ₂			O ₂		
CO ₂	3,1	ccm	CO ₂	2,5	ccm

Versuch XXVIII.

Mucor racemosus. 2 Kolben; der Kolben A enthält 0,5 g vom gewöhnlichen Acetondauerpräparat und 15 ccm 20-proz. Traubenzuckerlösung; Gesamtgasvolumen 238 ccm. Der Kolben B enthält 1 g vom getrockneten Acetondauerpräparat und 15 ccm 20-proz. Traubenzuckerlösung; Gesamtgasvolumen 236 ccm.

Stickstoffperiode 21 Stunden.

Gasanalysen:

A. CO ₂ 1,40 Proz.	B. CO ₂ 1,05 Proz.
N ₂ 98,60 „	N ₂ 98,95 „
CO ₂ 3,0 ccm	CO ₂ 2,2 ccm

Aus diesen Versuchen ist ersichtlich, daß der Gaswechsel der Acetondauerpräparate von *Mucor racemosus* einen typischen gährungsartigen Charakter hat und sich vom Gaswechsel des Zymins nur quantitativ unterscheidet. Vielleicht ist die so geringe Intensität des Gaswechsels der *Mucor*-Dauerhefe der Unvollkommenheit der Darstellungsmethode zuzuschreiben; denn dabei blieb die Möglichkeit der zerstörenden Wirkung der Oxydasen unberücksichtigt (bei der Hefe sind bekanntlich die oxydierenden Vorgänge so schwach, daß von einer Oxydierung der Zymase bei der Darstellung der Dauerhefe kaum die Rede sein kann). Die Untersuchung der Tätigkeit der *Mucor*-Dauerhefe beabsichtige ich allerdings später fortzusetzen.

Die Resultate der dritten Versuchsserie stimmen mit denen der anderen Serien vollkommen überein. *Mucor stolonifer* scheint seinem Wesen nach ein oxydierender Organismus zu sein, *Mucor racemosus* ist im Gegenteil ein Gärungserreger. *Mucor mucedo* nimmt eine Mittelstellung ein; $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ der gewöhnlichen Acetondauerpräparate ist zwar etwas > 1 ; dies trifft aber bei den getrockneten Präparaten nicht mehr zu, obschon die anaërobe CO₂-Ausscheidung in diesem Falle nicht ganz eingestellt wird.

Ueerblicken wir die gesamten Versuchsergebnisse, so ersehen wir folgendes: Von einer typischen Aërobe unterscheidet sich *Mucor stolonifer* nur dadurch, daß er besser die Sauerstoffentziehung erträgt und dabei eine nicht unbeträchtliche Quantität CO₂ ausscheidet; bei ganz guter Aëration ist aber dieser Organismus auf eine totale Verbrennung des Zuckers angewiesen. *Mucor mucedo* ist ein höchst interessanter Uebergangstypus: Bei Luftzutritt sind zugleich Oxydierung und Alkoholgärung tätig; bei Luftabschluß ist danach die CO₂-Ausscheidung bedeutend geringer als bei Luftzutritt. Bei den Acetondauerpräparaten bekommen oxydierende Vorgänge das Uebergewicht, doch stimmt die Tätigkeit dieser Präparate mit derjenigen der typischen Aëroben nicht ganz überein. *Mucor racemosus* ist ein gärungserregender Organismus; von den tüchtigsten Gärungserregern (wie *Saccharomyces cerevisiae*) unterscheidet er sich nur durch eine etwas stärker ausgebildete oxydierende Tätigkeit; bei den Acetondauerpräparaten von *Mucor racemosus* treten oxydierende Vorgänge in den Hintergrund. Es scheint kaum zweifelhaft zu sein, daß auch andere Uebergangstypen existieren. So scheint z. B. *Schizosaccharomyces Pombe* nach einer soeben publizierten Arbeit von M.

Leschtsch¹⁾ (wobei aber nur Bestimmungen der ausgeschiedenen CO₂ mittelst Pettenkofferscher Röhren vorgenommen wurden) eine Mittelstellung zwischen *Mucor racemosus* und *Mucor mucedo* einzunehmen. Die CO₂-Produktion von *S. Pombe* ist bei Luftabschluß geringer als bei Luftzutritt, doch ist der Unterschied nicht so scharf wie bei *Mucor mucedo*. Besonders charakteristisch ist der Umstand, daß die CO₂-Produktion von *S. Pombe* durch die Sauerstoffentziehung nicht momentan abgeschwächt wird; vielmehr dauert sie im Wasserstoff einige Stunden lang mit derselben Intensität wie an der Luft fort.

Zusammenfassung der wichtigsten Resultate:

1) Die echte Alkoholgärung ist auch bei guter Aëration durch hohe Werte von $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ zu erkennen; diese Regel bezieht sich nicht nur auf Hefe, sondern auch auf andere Organismen (*Mucoraceen*).

2) Wenn ein Organismus eine bedeutende Quantität CO₂ bei Sauerstoffabschluß produziert, so berechtigt dieser Umstand noch nicht zur Annahme, daß man es mit der Alkoholgärung zu tun hat; die intramolekulare Atmung einiger Organismen (*Mucor stolonifer*) ist ebenfalls sehr ausgiebig.

3) Der Hauptunterschied zwischen intramolekularer Atmung und Alkoholgärung besteht darin, daß die Kurve der intramolekulären Atmung kein Maximum hat; die Ausgiebigkeit der CO₂-Produktion nimmt in diesem Falle mit der Zeit regelmäßig ab.

4) Bei der Alkoholgärung der *Mucoraceen* kann Zucker ebensowenig wie bei der Alkoholgärung der Hefe durch andere Stoffe gedeckt werden.

5) Nach einer dauernden Sauerstoffentziehung kommt bei den untersuchten *Mucor*-Arten ein kurzdauernder, aber beträchtlicher Aufschwung der Größe von $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ zum Vorschein.

6) Eine 1 Stunde lang bei 100° dauernde Erwärmung des trockenen Zymins hat auf die Größe von $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ keinen Einfluß. Bei Sauerstoffabschluß produzieren die so getrockneten Präparate ebensoviel CO₂ wie bei Sauerstoffzutritt. Danach wird ein scharfer Unterschied zwischen Zymen und Acetondauerpräparaten der typischen Aëroben festgestellt.

7) *Mucor stolonifer* unterscheidet sich von den typischen Aëroben bloß durch bessere Anpassung an die zeitweilige Anaërobie. *Mucor racemosus* ist ein Gärungserreger. *Mucor mucedo* nimmt eine Mittelstellung zwischen den oxydierenden Organismen und den Gärungserregern ein.

Sämtliche hier beschriebenen Versuche sind im Laboratorium des Herrn Professor W. Palladin ausgeführt worden. Es gereicht mir daher zu besonderem Vergnügen, Herrn Professor

1) Leschtsch, M., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. 1904.

W. Palladin für das fortwährende Interesse und die freundliche Ueberlassung der reichlichen Untersuchungsmittel des St. Petersburger pflanzenphysiologischen Instituts meinen tiefsten Dank auszusprechen.

St. Petersburg, Pflanzenphysiol. Laborat. der Universität.

Nachdruck verboten.

Ueber die in der normalen Milch vorkommenden Anaëroben und ihre Beziehungen zum Käsereifungsprozesse.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Rom und aus dem städt. bakteriolog. Laboratorium zu Padua.]

Von Dr. med. **Antonio Rodella.**

(5. Mitteilung.)

(Schluß.)

Gewöhnlich wachsen die Aëroben und fakultativ Anaëroben schon in den ersten 24—48 Stunden; die streng Anaëroben etwas später, nach 4—5, manchmal erst nach 10—12 Tagen.

Die Isolierung aus der Tiefe bietet keine großen Schwierigkeiten; man fischt eine Kolonie mit der Platinöse oder besser mit einer sterilen, ausgezogenen Pasteurschen Pipette heraus und überimpft weiter. Diese Methode verdient eine nähere Besprechung, da Tissier und Gasching für ihre Milchuntersuchungen sich derselben bedient haben. Genannte Autoren haben sie nur insofern modifiziert, daß sie den Nähragar anstatt mit 15 ‰, wie es von Veillon vorgeschrieben wurde, nur mit 10 ‰ Zucker bereiteten.

Von dem Liborius-Veillonschen Verfahren sagt Tissier: „Si nous avons insisté sur cette méthode, c'est qu'elle nous paraît absolument générale. Elle donne toutes les espèces susceptibles de pousser en gélose sucrée.“

Ich muß auf Grund meiner langjährigen Erfahrung den Schluß von Tissier als nicht berechtigt ansprechen.

Wenn in dem zu untersuchenden Material Anaëroben in sehr großer Anzahl vorhanden sind, und wenn die sich darin befindenden aëroben und fakultativ anaëroben Keime keine antagonistische Wirkung auf die ersteren ausüben, dann kann diese Methode im allgemeinen als eine rasche und zuverlässige betrachtet werden. Aber auch in diesen Fällen läßt sie manchmal im Stiche, und wir haben häufig keine Anaëroben isolieren können aus einem Material, worin durch Anwendung anderer Methoden solche sehr leicht sich nachweisen ließen.

Es genügt übrigens die bloße Ueberlegung, daß Anaëroben viel langsamer als die Aëroben wachsen, und daß diese letzteren die ersteren überwuchern, um der Liborius-Veillonschen

Methode keine allgemeine Anwendung zuzusprechen. Es ist ja klar, daß bei diesem Verfahren die aëroben Arten und ihre Stoffwechselprodukte schon in dem ganzen Nährboden diffundiert sind und sozusagen denselben für sich allein in Anspruch genommen haben, bevor die Anaëroben ihr Wachstum anfangen, welches dann schwierig oder ganz unmöglich gemacht wird, wenn antagonistische Verhältnisse vorliegen. In dieser einzigen Beziehung wäre vielleicht das anaërobe Plattenverfahren der Liborius-Veillonschen Methode überlegen, da auf der Platte, wenn wenig geimpft wurde, der Einfluß von einer Kolonie auf die andere weniger zur Geltung kommt.

Wir könnten aus der Literatur beliebig viele Beispiele anführen von Fällen, in welchen ganz sicher pathogene und nicht-pathogene Anaëroben vorhanden waren, die sich mit der Liborius-Veillonschen Methode nicht nachweisen ließen. Wir haben auch schon in Bd. XI. No. 24/25 dieser Zeitschrift einen Passus von Schattenfroh und Grassberger zitiert, der speziell auf die ungünstigen Resultate der festen Nährböden für die Anaërobenforschung aufmerksam macht.

Bei Wiederholung und Nachprüfung der Versuche von Tissier und Gasching habe ich die Veillonsche Methode und zum Vergleich auch flüssige Medien in der unten angegebenen Weise verwendet. Ich erhielt mit den letzteren viel bessere Resultate als mit der ersteren und weitaus bessere als die zwei französischen Autoren. Das beweist also, daß die Liborius-Veillonsche Methode nur in einzelnen bestimmten Fällen gute Dienste leisten kann.

Da eine Anzahl bekannter Anaëroben ziemlich widerstandsfähig gegen höhere Temperaturen ist, wurde ferner diese Methode insofern modifiziert, daß der Agar bei 100° oder etwa bei 80° geimpft wird, so daß die meisten aërob wachsenden Bakterien abgetötet werden. Diese Modifikation bietet große Vorteile, und wir haben dieselbe in unseren Untersuchungen auf Darmanaëroben und in manchen anderen Fällen mit Erfolg geübt.

Das Gelingen hängt zunächst davon ab, daß nicht zu wenig anaërobe Sporen in dem Ausgangsmaterial vorhanden sind, vor allem aber von der Beschaffenheit der vorhandenen Bakterien. Sind in großer Menge solche Aëroben vorhanden, so gelingt die Isolierung der Anaëroben meist nicht. In Bezug auf Wachstum auf künstlichen Nährböden ist ferner das Verhalten der einzelnen Mikroorganismen verschieden. Wie es in vielen Infektionskrankheiten (Tetanus, malignes Oedem u. s. w.) vorkommen kann, daß eine Reihe von verschiedenen aëroben und anaëroben Bakterien wachsen, daß aber der eigentliche Krankheitserreger nur spärlich oder gar nicht zur Entwicklung gelangt, so kommt es auch in verschiedenen anaëroben Gärungsprozessen vor, daß der eigentliche Gärungserreger auf unseren festen Nährmedien schwerer zu isolieren ist. Deshalb ist das Bestreben der Bakteriologen von jeher darauf gerichtet, für die Züchtung der einzelnen Keime, die im Tierkörper oder an Orten ihres Vorkommens in der unbelebten Natur

häufig mit anderen Keimen vermischt sich finden, spezifische Nährmedien zu finden. Das sind einerseits solche Böden, auf denen das Wachstum der gesuchten Art ausschließlich oder doch ganz überwiegend erfolgt, und gerade die als Begleitbakterien in Betracht kommenden Arten keine oder doch nur sehr ungünstige Bedingungen ihres Fortkommens finden. So haben z. B. Schattenfroh und Grassberger für die Züchtung des Rauschbrandbacillus die Ueberimpfung auf sterilen Rindermuskel empfohlen. Für andere pathogenen Anaëroben sind wiederum andere Verfahren vorgeschlagen worden; es ist leider für keine einzige pathogene Bakterienart ein Nährboden gefunden worden, der die gewünschten Ziele ganz erreicht, wenn auch manche ihnen nahe kommen.

Die als spezifisch angepriesenen Nährböden erweisen sich meist für diesen Zweck nur in sehr bedingtem Maße als brauchbar und sind zum Teil bald in Vergessenheit geraten. Für die pathogenen Anaëroben kann aber auch neben der Anlegung von Kulturen auch der Tierversuch herangezogen werden; eine Methode, welche gewiß in vielen Fällen zum Ziele führt.

Für die Züchtung und Isolierung mancher Anaëroben ganz harmloser Natur wurden auch einige elektive Verfahren angegeben, welche zum Teil, da es sich um flüssige Medien handelt, weiter unten besprochen werden. Unter den festen Nährmedien hat Bienstock als elektiven Nährboden für seinen *Bacillus putrificus* folgenden angegeben:

Dem gewöhnlichen Nähragar etwas Blutserum oder Ascitesflüssigkeit hinzufügen, nach dem Kochen umschütteln und nicht filtriert in die Reagenzgläser füllen und dort nochmals sterilisieren. Das koagulierte Eiweiß setzt sich unten ab und der eingepfote *Putrificus* findet sogleich das ihm zusagendste Medium. Das Eiweiß färbt sich rasch schwarz, was auch ein gutes Unterscheidungsmerkmal von anderen nicht putrifizierenden Anaëroben ist.

Unter den festen Nährböden für die Züchtung vieler Anaëroben liefert das Alkalialbuminat ausgezeichnete Resultate.

Hühnereier werden in 10-proz. Lösung von Kalihydrat gebracht. Nach 4 Tagen wird das veränderte Eiweiß in Reagenzgläser gefüllt und zur Hälfte mit Wasser verdünnt. Nach 15 Minuten langer Einwirkung von 105° erstarrt es opaleszierend, bleibt aber doch durchscheinend.

Neben diesem Verfahren von Tarchanow kann auch das von Rosenthal und Schulz angewendet werden. Diese Autoren pressen frisches Eiereiweiß durch Musseline. Auf je 5 Eiweiß Zusatz von 3 ccm 1-proz. Kali- oder Natronlauge. Die Substanzen bleiben in einem Maßcylinder mit Glasstöpsel einige Stunden stehen und werden durch wiederholtes Neigen des Cylinders vermischt. (Schütteln wegen störender Schaumbildung vermeiden!) Einfüllen der Mischung in sterile Reagenzgläser; Erhitzen bei 95–98° im Wasserbad; dabei gerinnt das Eiweiß zu einer durchsichtigen, höchstens leicht opaleszenten Gallerte. (Temperaturerhöhung auf

100° ist zu vermeiden, weil die dann in Blasen entweichenden Wasserdämpfe die Gallerte zerreißen.)

Das auf Anaëroben zu untersuchende Material wird mit sterilem Wasser in eine dünne Aufschwemmung emulsioniert. Mittels einer sterilen ausgezogenen Pasteurschen Pipette wird die ganze Oberfläche des Nährbodens bestrichen. Es wird so reichlich geimpft, daß einige Tropfen der Aufschwemmung im unteren Teile des Röhrchens eine Art Kondenswasser bilden.

Für die Herstellung der Anaërobiose bedient man sich in diesen Fällen der Buchnerschen Methode mit der alkalischen Pyrogalllösung.

b) Flüssige Medien.

Die Tatsache, daß für die Entwicklung von Anaëroben in Mischkultur flüssige Medien sich besser eignen als feste Nährböden, ist von uns schon in Bd. XI. No. 24/25 erwähnt worden; im allgemeinen wachsen die Anaëroben auch in Reinkulturen in den letzteren Substraten viel schlechter. Daß der Wassergehalt für das Gedeihen dieser Lebewesen eine große Rolle spielt, beweist unter anderem auch der Umstand, daß sie manchmal nur in den frisch bereiteten festen Substraten zur Entwicklung kommen. Diese schon von Sanfelice beobachtete Tatsache ist hauptsächlich darauf zurückzuführen, daß die alten Nährböden wasserarm sind. Der Luftgehalt dürfte hier kaum in Betracht kommen, da die Luft auch aus einem alten Nährboden durch Auskochen ausgetrieben werden kann.

Unter den flüssigen Medien bietet die sterilisierte Milch die größten Vorteile und sie sollte in keiner Untersuchung auf Anaëroben beiseite gelassen werden. Sie wurde unter der Bezeichnung von „Botkinscher Methode“ hauptsächlich für die Isolierung des unbeweglichen Buttersäurebacillus benützt; sie ist aber zu empfehlen auch für die Züchtung und Isolierung der anderen Anaërobenarten, um so mehr, da die Anwendung derselben noch einfacher ist als die der Liborius-Veillonschen Methode.

Man füllt die Milch in Kolben mit langem schmalen Halse so weit ein, daß die Milchsäule im Flaschenhalse und nach 12-stündigem Stehen auf Eis die Rahmsäule wenigstens 10 cm hoch ist. Entsprechend den Forderungen Flügges, wird die Milch durch fraktionierte Sterilisation hergestellt. Nach der Sterilisierung wird die Milch noch 14 Tage im Thermostaten gelassen. (Bei den verschiedenen für die Sterilisation nötigen Manipulationen ist peinlich jede Erschütterung der Milch zu vermeiden!)

Man kocht sie, nachdem sie die 14-tägige Kontrollprobe überstanden hat, nochmals 1 Stunde im Wasserbad und infiziert sie dann nach Abkühlung auf ca. 30°.

Handelt es sich um Material, das viele aërobe und anaërobe Keime enthält, so empfiehlt es sich, die Impfung in die noch heiße Milch vorzunehmen, um die Abtötung der nicht sporenbildenden Bakterien zu verursachen. Die Impfung geschieht dann am besten bei einer Temperatur von 70°.

Die Größe der Gefäße kommt natürlich sehr in Betracht bei diesen Untersuchungen. Mit Gefäßen von 100 ccm Inhalt darf man die bei 70° geimpfte Milch ohne weiteres in den Brutschrank stellen, da die Abkühlung ziemlich rasch vor sich geht. Impft man größere Kolben ein, so muß man 5 Minuten nach der Impfung dieselben in kaltes Wasser stellen, damit eine Abtötung auch der sporenhaltigen Keime und eine Sterilisierung des geimpften Materials nicht geschieht ¹⁾).

Nach stattgehabter Abkühlung stellt man die geimpften Kolben in den Brutschrank; ist der unbewegliche Buttersäurebacillus in dem geimpften Material vorhanden, so gewinnt er bald unter den übrigen Gärungserregern die Oberhand und es kommt schon binnen 24 Stunden zu einer stürmischen Buttersäuregärung.

Bekanntlich führt der unbewegliche Buttersäurebacillus nicht zu einer Peptonisierung des Kasein; andere Anaëroben, die das Kasein vollständig peptonisieren entwickeln sich auch dank dieser Methode sehr gut. Das Kasein ist häufig binnen 2—3 Tagen stark angegriffen und die Milch zeigt eine gelbe oder rosagelbe Farbe; es kommt auch bei diesen Fällen zu mehr oder weniger lebhafter Gasbildung. Manchmal erfolgt zuerst durch Entwicklung anderer Bakterienarten eine Gerinnung der Milch und erst dann findet in der so veränderten Milch eine stürmische Gärung statt, welche auf andere Anaërobenarten zurückzuführen ist.

Für die Züchtung mancher Anaëroben ist das von Beijerinck angegebene Verfahren demjenigen von Botkin zur Seite zu stellen. Es werden bekanntlich 5 g Glykose und 5 g Pepton auf 100 g Wasser in strömendem Dampf sterilisiert. Das zu untersuchende Material wird in die noch warme Lösung hineingetan, unter den Kautelen, die wir vorher für die Impfung in die warme Milch angegeben haben.

Auch für diese Methode werden Gefäße mit langem, schmalem Halse verwendet; hier ist sogar diese Bedingung noch wichtiger als bei dem Botkinschen Verfahren. Obwohl es nicht nötig ist, haben wir in vielen Untersuchungen einen Teil des Gefäßhalses mit sterilem Oel gefüllt, was uns vorteilhaft schien.

In diesem Beijerinckschen Nährmedium kommt bekanntlich mit Vorzug der bewegliche Buttersäurebacillus zur Entwicklung, aber auch andere Anaërobenarten finden darin gute Wachstumsbedingungen. Ein den zwei hier beschriebenen Verfahren gemeinsamer Nachteil ist, daß die Flüssigkeit infolge der heftigen Gasbildung zum Teil hinausgeschleudert wird. Man hat einige Schutzvorrichtungen beschrieben, die dieses Uebel weniger bemerkbar machen; ich beschränke mich darauf, die Kolben in ein größeres Gefäß hineinzutun, damit der Brutschrank von der Flüssigkeit nicht verschmutzt wird. Wenn die Gärung weniger intensiv verläuft, dann ersetzen wir den weggeschleuderten durch einen sterilen Wattepfropfen.

1) Aus diesem Versuchsfehler lassen sich wahrscheinlich die negativen Resultate von Fräulein Gerda Troili-Petterson erklären. (Centr. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI.)

Es empfiehlt sich gewöhnlich nicht, direkt aus diesen gärenden Flüssigkeiten durch Anwendung der festen Nährböden eine Isolierung der Anaëroben zu versuchen, sondern erst nach der zweiten oder dritten Kultur. Einige gut gefärbte Ausstrichpräparate können hierüber Aufschluß geben, überhaupt sollte jeder Kulturversuch nur unter Kontrolle des Mikroskopes geschehen. Auch die Bouillon leistet bei den Anaërobenuntersuchungen vorzügliche Dienste. Sie wird (wie überhaupt alle zur Anaërobenzüchtung dienenden Nährböden) mit reduzierenden Substanzen, Zucker und ameisensaurem Natron 0,3–0,5 Proz., indigschwefelsaurem Natron 0,1 Proz., versetzt. Hammerl empfiehlt als reduzierendes Mittel das Schwefelammonium; Trenkman den Zusatz von 4–10 Tropfen 10-proz. Na_2S -Lösung in 10 ccm Bouillon. Dieser Zusatz von Schwefelalkali gestattet auch streng Anaëroben die Entwicklung bei Luftzutritt. Das Wachstum der Anaëroben kann ohne besondere Kautelen in der Symbiose mit anderen Bakterien erfolgen, sei es, daß der Sauerstoff durch die Aëroben vollständig verbraucht wird oder daß nach Kedrowsky durch die Aëroben Stoffe gebildet werden, die ähnlich wie die reduzierenden Substanzen das Wachstum der Anaëroben auch bei Sauerstoffgegenwart gestatten.

Nach den Untersuchungen von Scholz wäre die erste Annahme die richtige; Kedrowsky, v. Oettingen und in letzter Zeit auch Bienstock haben nachgewiesen, daß auch der zweite Faktor in Betracht kommt.

Eine exakte Vorstellung, in welcher Art und Weise diese symbiotischen Vorgänge sich abwickeln, wäre nicht nur von großem wissenschaftlichen Interesse, sondern auch von praktischer Bedeutung.

v. Freudenreich hat z. B. sich dahin ausgesprochen, daß diese symbiotischen Verhältnisse auch für eine Bakterienemulsion im sterilen Wasser vorliegen, was uns sehr fraglich scheint. Wenn z. B. v. Freudenreich 0,5 g Käse in 5 ccm Wasser verreibt (wie er es getan hat) und dann diese Käseemulsion in den Brutschrank stellt, so ist es nicht leicht möglich, daß die Aëroben in einer an Nährstoffen so armen Lösung sich derart entwickeln, um den Anaëroben alle günstigen Bedingungen für ihr Wachstum zu schaffen. Es muß wenigstens von jedermann zugegeben werden, daß in diesen Fällen die Zuckerbouillon nicht so große Anforderungen auf die Entwicklungsfähigkeit der Anaëroben stellt wie das sterile Wasser. v. Freudenreich schreibt aber in der zitierten Arbeit (diese Zeitschrift, Bd. XI. No. 10/11): „Eine Emulsion mit Wasser hergestellt, schien mir die Bedingungen, wie sie in Wirklichkeit vorliegen, wiederzugeben.“ Dabei wäre aber zu bemerken, daß in dem reifenden Käse ganz streng anaërobe Verhältnisse vorliegen, welche in der von v. Freudenreich angeführten Technik gar nicht wiedergegeben werden.

Ein Wort verdient hier auch die Anwendung von $\frac{1}{2}$ -proz. Milchsäurebouillon (mit 1 Proz. Traubenzucker). Dieser Nährboden ermöglicht in vielen Fällen eine viel raschere und sichere Isolierung der Anaëroben als mit den anderen Methoden. Statt von

der erhitzten Mischkultur direkt zur Isolierung auf festem Substrat zu schreiten, tut man am besten, aus der sauren Bouillon ein paar alkalischer Zuckerbouillonröhrchen zu impfen und dieselben unter Luftabschluß 3 Tage bei 37° zu halten. In der Technik der Anaërobenzüchtung liefert die Milchsäure noch bessere Dienste bei der in der folgenden Rubrik beschriebenen Methode.

c) Kombinierte Verfahren.

Aus dem bis jetzt Gesagten geht ohne weiteres hervor, daß kein einziges Verfahren als ein ideales betrachtet werden kann, und daß eine einheitliche Methode zur Isolierung der Anaëroben noch nicht existiert. Handelt es sich nur um qualitative Untersuchungen, so sind wir jedoch schon mit Anwendung einer oder mehrerer der bis jetzt angegebenen Methoden im stande, das Ziel zu erreichen. Schwieriger gestaltet sich die Aufgabe, wenn wir auch die quantitativen Verhältnisse der in einem Material enthaltenen Anaëroben zu bestimmen haben.

So scheint z. B. der von v. Freudenreich uns gemachte Einwand, daß mit den sogenannten Anreicherungsverfahren „die Anaëroben leicht zur Entwicklung gelangen, auch wenn ursprünglich vielleicht nur ein paar Sporen derselben vorhanden waren“, nicht ohne jede Berechtigung. Und wenn wir nachgewiesen haben, daß in $\frac{1}{2}$ g Käse sich regelmäßig Anaëroben befinden, so ist das nur ein Fortschritt gegenüber der früheren Annahme, wonach die Anaëroben im Käse noch spärlicher sein sollten.

Damit war freilich der Beweis noch nicht erbracht, daß sie zahlreich sind, da in $\frac{1}{2}$ g Käse auch nur 1 oder 2 Sporen derselben vorhanden sein konnten.

Eine Methode, welche gestattet, die minimale Zahl der vorhandenen Anaëroben zu bestimmen, wäre die von Liborius-Veillon oder im allgemeinen die Anwendung von festen Nährböden, wie es z. B. v. Freudenreich für seine Käseuntersuchungen gemacht hat. Was sich dagegen einwenden läßt, haben wir bereits in Bd. XI. No. 24/25 dieser Zeitschrift mitgeteilt und brauchen wir es nicht zu wiederholen.

Aus denselben Gründen ist die Anwendung von Zuckerbouillon nur wenig vorteilhafter, da in derselben eine Ueberwucherung von rasch wachsenden fakultativ anaëroben Keimen möglich ist. Am besten bediene man sich des auf 120°—130° sterilisierten Eiereiweißes und einer Wasseremulsion des zu untersuchenden Materials, welcher zweckmäßig reduzierende oder nur alkalisierende Substanzen zugesetzt werden.

Die Vorteile dieses Nährbodens sind verschiedener Art:

Das gekochte Eiereiweiß bildet für die meisten Aëroben und fakultativ Anaëroben kein zusagendes Medium und wird von denselben nicht angegriffen. Für eine ganze Anzahl anaërober Arten ist dagegen das Eiereiweiß ein ausgezeichnete Nährboden, welcher auch tief zersetzt wird; der Grad und das makroskopische Aussehen dieser Veränderungen lassen einigermaßen schon auf den ersten Blick vermuten, welche Gruppe von Anaëroben bei der Zer-

setzung tätig war. Auch der Geruch der Kulturen kann dem Geübten einigermaßen für diese Frühdiagnose behilflich sein.

Andererseits vermehren sich die Mikroorganismen in dem diesen Kulturen hinzugefügten Wasser (mit oder ohne Zusatz von reduzierenden Substanzen) nur sehr wenig. Es kommt also hier nicht wie in Bouillon eine Ueberwucherung von rasch wachsenden Arten vor, was allerdings ein sehr großer Vorteil ist. Das Wasser erfüllt also hier den Zweck, vor allem die Entwicklung der Bakterien, die auf dem trockenen Eiereiweiß nicht gedeihen würden, zu ermöglichen. Ferner hält das Wasser die Stoffwechselprodukte bzw. die Diastasen der Bakterien in Lösung, wodurch der feste Nährboden leichter angegriffen wird. Diese zweite Aufgabe wird durch Alkalizusatz sehr gefördert.

Die schwammige Beschaffenheit des gekochten Eiereiweißes mit den vielen Rissen und Löchern ermöglicht dem Wasser, in den ganzen Nährboden einzudringen, was für eine gleichmäßige Verteilung der Keime von großer Bedeutung ist. Daß dieser letzte Umstand für das Gelingen mancher Untersuchungen nicht zu vernachlässigen sei, beweisen hauptsächlich jene Fälle, wo das Eiereiweiß von den Anaëroben nicht peptonisiert wird und nur unbedeutende Veränderungen erleidet. Hier muß man, um möglichst verschiedene Anaërobenarten zu isolieren, sich verschiedener Methoden bedienen; ein Stückchen des fast unveränderten Eiereiweißes wird z. B. in die Beijerincksche Lösung eingepflegt, ein zweites Stück in die Milch nach Botkin u. s. w. Es ist ja klar, daß wenn die Bakterien nicht gleichmäßig, sondern hier und da haufenweise zerstreut wären, die durch die erwähnten Methoden erhaltenen Resultate keine große Beweiskraft in negativen Fällen hätten, da der Mißerfolg eventuell der ungleichmäßigen Verteilung der Mikroorganismen zuzuschreiben wäre. Und wenn es sich darum handelt, in kleinsten Quantitäten von Milch, wie wir es getan haben, den Anaërobengehalt zu bestimmen, dann ist man nie genügend vorsichtig, um eine Fehlerquelle zu vermeiden.

Noch schwieriger ist diese Bestimmung aus einem festen Materiale, wie z. B. aus Käse. In diesem Falle empfiehlt es sich, etwas größere Stücke desselben zu nehmen, die dann in einer genau abgemessenen Quantität sterilen Wassers so gleichmäßig wie möglich emulsiert werden. Diese Emulsion wird dann weiter wie die Milch untersucht. Auf diese Weise kann die ungleichmäßige Verteilung der Bakterien im Käse die Richtigkeit der Resultate weniger beeinträchtigen. Hat man z. B. 1 g Käse in 100 ccm Wasser aufgeschwemmt und in 1 ccm dieser Aufschwemmung Anaëroben gefunden, so kann man mit Sicherheit sagen, daß in 0,001 g Käse Anaëroben vorhanden sind. Neben diesen Versuchen ist es sehr zweckmäßig, mit äußerst kleinen Käseproben im festen Zustande die gleichen Untersuchungen vorzunehmen, um darüber klar zu werden, ob die Anaëroben im Käse gleichmäßig in der ganzen Masse verteilt sind oder hier und da haufenweise zerstreut. Diese letztere Möglichkeit wird auch durch die neuerlichen mikroskopischen Untersuchungen von Gorini über

den Granakäse wahrscheinlich gemacht. Wir haben schon an verschiedenen Stellen das Verfahren mit gekochtem Eiereiweiß erwähnt; in Anbetracht der vorzüglichen Dienste, welche dasselbe bei der Anaërobenforschung liefert, glauben wir hier eine nähere Beschreibung am Platze. Das frische Eiereiweiß wird mittelst einer ausgezogenen Pasteurschen Pipette in die Tiefe der Gruberschen Röhrchen hineingebracht und dann etwa $\frac{1}{4}$ Stunde auf 120° — 130° sterilisiert.

Sind die Eiereiweißröhrchen schon sterilisiert und abgekühlt, dann läßt man ebenfalls mittels einer Pasteurschen Pipette die Wasseremulsion des zu untersuchenden Materials in Quantitäten von 8—10 ccm in die Röhrchen hinein. Neben der Emulsion im sterilen Wasser empfiehlt es sich, dasselbe Material in anderen Eiweißröhrchen mit folgenden Lösungen zu emulsionieren:

- 1) 2-proz. Wasserlösung von kohlen-saurem Natron;
- 2) 1-proz. Natronlaugelösung;
- 3) $\frac{1}{2}$ -proz. Milchsäurelösung;
- 4) 1-proz. Traubenzuckerlösung (je nach der Untersuchung Milchsäurelösung).

Beim Evakuieren soll man den unteren Teil des Röhrchens vorsichtig auf etwa 45° — 50° zeitweise erwärmen, um die Anaërobiose zu begünstigen und die Röhrchen tüchtig zu schütteln. Die Anaërobiose ist wegen des Umstandes, daß das gekochte Eiereiweiß so viel Luft in sich schließt, ziemlich schwer zu erreichen, weshalb das Evakuieren sehr lange dauern und mit großer Sorgfalt gemacht werden soll. Nachdem alle Luft ausgepumpt ist, wird die verengte Stelle des Röhrchens abgeschmolzen und dasselbe bei 37° gehalten. Nach 2—4 Wochen Aufenthalt im Brutschrank werden die Gruberschen Röhrchen geöffnet, was mit allen Kautelen zu geschehen hat, da nicht selten, hauptsächlich wenn reduzierende Substanzen verwendet wurden, beim Oeffnen eine Explosion stattfindet. Der Inhalt dieser Röhrchen wird erst nach Anfertigung von ein paar mikroskopischen Präparaten, wobei vor allem das Vorhandensein von Sporen ins Auge zu fassen ist, weiter verarbeitet. Etwa $\frac{1}{2}$ ccm des Materials dient zur Anwendung der Liborius-Veillonschen Methode. Will man nicht zu viel Zeit opfern, so beschränkt man sich darauf, mit dem übrigen Materiale (in festem oder flüssigem Zustande je nach der stattgefundenen Eiweißpeptonisierung) 2 Michkolben nach Botkin und 2 andere Gefäße nach der Beijerinckschen Methode zu impfen. Eine Erwärmung des Materials vor der Impfung kann nur geschehen, wenn Sporen in sehr großer Zahl vorhanden sind. Sind dieselben spärlich, so impft man lieber die Kolben bei einer Temperatur von 40° . Die definitive Isolierung der Anaëroben geschieht immer im Hohen-schichtenagar nach der schon angegebenen Verdünnungsmethode.

Will man hauptsächlich auf das Vorhandensein von eiweißpeptonisierenden Arten das Augenmerk richten, so bediene man sich, schon um die Aufschwemmung des Ausgangsmaterials herzustellen, der 1-proz. (zuweilen bis 4-proz.) Natronlaugelösung. Auch die $\frac{1}{2}$ -proz. Milchsäurelösung liefert merkwürdigerweise in diesen

Fällen ausgezeichnete Resultate. Wir heben dies besonders hervor, weil, wie wir es schon in Bd. XI. No. 14/15 dieses Centralbl. mitgeteilt haben, unsere Befunde in einem gewissen Widerspruch zu dem, was man in den Lehrbüchern über diesen Gegenstand geschrieben findet, stehen. Wir konnten in der Tat bei unseren Käseuntersuchungen häufig genug beobachten, daß die in $\frac{1}{2}$ -proz. Milchsäurelösung gemachte Käseemulsion nach 3—5 Wochen das gekochte Eiereiweiß fast vollständig aufgelöst hatte. Hier konnten die peptonisierenden Anaëroben ohne weiteres isoliert werden.

Zum Schlusse möchte ich noch erwähnen, daß man, anstatt das Eiweiß in der oben angegebenen Weise in den Gruberschen Röhrchen zu sterilisieren, dasselbe auch in der von Achalme vorgeschlagenen Form verwenden kann.

Hartes Eiereiweiß wird in kleine Würfel geschnitten, in die Röhrchen hineingetan, mit dem 10fachen Volumen Wasser vermengt und auf 120° sterilisiert. Diese Methode von Achalme erlaubt eine leichtere und sicherere Anaërobiose herzustellen.

Spezielles über die Untersuchungen auf anaërobe Bakterien in der Milch.

Unsere Untersuchungen wurden im November 1903 im Hygiene-Institut der Universität Rom angefangen und mußten dann im März 1904 unterbrochen werden. Ich führte sie fort bis Ende Juli am städtischen bakteriologischen Laboratorium zu Padua, ohne jedoch denselben viele Zeit widmen zu können. Die Resultate der in Rom gemachten Untersuchungen habe ich schon an anderem Orte mitgeteilt¹⁾. Die Milch, welche für meine Untersuchungen diente, habe ich immer so frisch als möglich gekauft, d. h. sofort, nachdem sie von dem Lande zu den Verkaufsstellen in die Stadt gebracht wurde. Die Technik für diese Untersuchungen beruht auf den weiter oben gegebenen Prinzipien. Es kamen 4 verschiedene Verfahren zur Anwendung.

I. 10 ccm Milch wurden in sterile Grubersche Röhrchen hineingetan, die beim Evakuieren in einem Wasserbad auf 50° gehalten wurden. Nach erfolgter Anaërobiose (ca. $\frac{3}{4}$ Stunden Evakuieren) wurden die Röhrchen zugeschmolzen und bei 37° gehalten. Häufig war die Milch schon nach 24—48 Stunden stark verändert; gewöhnlich erschien sie als eine klare Flüssigkeit mit einer auf der Oberfläche schwimmenden Fetthaut. Auf dem Boden des Röhrchens waren mehr oder wenig spärliche Kaseinbröckchen vorhanden.

II. In Gruberschen Röhrchen wurden Eiereiweißwürfel mit Wasser auf 125° $\frac{1}{4}$ Stunde lang sterilisiert und dann 0,5 ccm der zu untersuchenden Milch hinzugefügt. Auch diese Röhrchen wurden unter strenger Anaërobiose 2—3 Wochen bei 37° gehalten.

Mit der Anwendung der oben angeführten Methoden (von Liborius-Veillon, von Botkin, von Beijerinck) konnten

1) Giornale della Reale Società Italiana d'Igiene. 1904.

nachher bei sämtlichen untersuchten Milchproben von beiden Versuchsreihen (im ganzen mehr als 30 Milchproben) Anaëroben nachgewiesen werden.

III. Die Untersuchungen der dritten und vierten Versuchsreihe wurden mit kleineren Quantitäten Milch, und zwar mit 0,1 ccm, vorgenommen. Diese Milch wurde mit 5 ccm einer 1-proz. Natronlaugelösung und 5 ccm einer 1-proz. Traubenzuckerlösung verdünnt und dann in die Gruberschen Röhrchen, welche das auf 125—130° sterilisierte Eiereiweiß enthielten, hineingetan.

IV. 0,1 ccm Milch, mit 8 ccm einer 2-proz. Lösung von kohlen-saurem Natron verdünnt und in die Eiereiweißröhrchen, wie sub III, hineingetan. Nach 3—4-wöchigem Aufenthalt im Brutschrank wurden ebenfalls auch diese Röhrchen untersucht.

Bei 10 in Rom gemachten Untersuchungen konnten in 0,1 ccm Milch nur 7mal Anaëroben nachgewiesen werden. Die negativen Resultate haben wir schon damals auf mangelhafte Technik zurückgeführt. Diese Annahme hat sich bei unseren späteren Untersuchungen vollständig bestätigt. Für so kleine Quantitäten Milch ist aber die gleichzeitige Verwendung aller 3 angeführten Methoden notwendig; sollte eine von diesen weggelassen werden, so könnte dieselbe nur die von Liborius-Veillon sein. Diese kann nur zuletzt, wenn durch die zwei anderen Anreicherungsverfahren eine genügende Ueberwucherung der Anaëroben stattgefunden hat, eine praktische und nützliche Anwendung finden. Will man jedoch dieselbe als vergleichende Untersuchung und neben dem Verfahren von Botkin und von Beijerinck gebrauchen, so dürfen einige Vorschriften nicht vergessen werden, vor allem die Ueberschichtung des Agars, die Verwendung größerer Reagenzgläser, die Vermeidung der Austrocknung des Nährbodens (mittels Gummikappen, Siegel-lack u. s. w.), da die Untersuchung dieser Kulturen erst nach 10—14-tägigem Aufenthalt im Brutschrank zu geschehen hat. Manchmal sahen wir in dem wegen der reichlichen Abimpfung trüben Agar anaërobe Kolonien ohne Spur von Gasbildung 12—14 Tage nach der Impfung mit der Eiereiweißkultur zur Entwicklung kommen. Eine weitere Züchtung dieser Kolonien in Agar, auch bei sehr reichlicher Abimpfung, versagte. Dagegen entwickelten sich dieselben Anaëroben sehr üppig mit Anwendung des Botkinschen Verfahrens, wenn ein Stück der Agarkultur in die Milch hinein-gebracht wurde. Unsere Untersuchungen, die sich auf über 100 Milchproben erstrecken, haben uns Verschiedenes gelehrt.

In erster Linie haben wir beim Vergleich der verschiedenen Methoden die große Ueberlegenheit des sub IV angegebenen Verfahrens konstatieren können. Es hat sich ferner die Annahme von Flügge, nach der $\frac{1}{2}$ l Milch nur eine Spore von Anaëroben enthalten soll, als grundlos und falsch erwiesen. Vorläufig können wir als minimale Zahl der vorhandenen Anaëroben pro 0,1 ccm Milch 1—3 angeben, da unsere Untersuchungen mit noch kleineren Quantitäten Milch nicht so zahlreich sind, daß wir aus denselben allgemeine Schlüsse ziehen können. Immerhin ist zwischen der von Flügge und von uns angegebenen Zahl ein kolossaler Unter-

schied vorhanden. Bedenkt man aber, daß auch eine gesunde Milch pro Kubikcentimeter 100000 Keime enthalten kann, so würden immer noch die Anaëroben in derselben den Aëroben weitaus zurückstehen. Flügge war, meines Wissens, der erste, der die Frage aufgeworfen hat, ob und welche hygienische Bedeutung den Milchanaëroben zukäme. Es ist hier nicht der Ort, um dieser Frage näherzutreten; meine Untersuchungen zeigen aber deutlich genug, daß sie in Zukunft mehr zu beherzigen ist und eingehende Studien verdient.

In der frischen Milch, welche viel Luft enthält, dürften die Anaëroben keine bedeutende Wirkung entfalten und kaum der Konkurrenz der aëroben Bakterien widerstehen. Erst wenn sie in ein anaërobes Medium, wie z. B. in den Darmtraktus, gelangen, falls sie dort zusagende Nährstoffe und verlängerten Aufenthalt finden, dürften dieselben giftige Produkte bilden, vorausgesetzt, daß giftbildende Anaëroben in der Milch vorhanden waren. Mit anderen Worten, eine endogene Infektion durch die Milchanaëroben ist viel wahrscheinlicher als eine ektogene.

Anders verhält sich die Sache im Käse, wo schon im Anfangsstadium der Reifung der Sauerstoff völlig verschwunden ist und streng anaërobe Verhältnisse vorliegen. Wenn also in der für die Käsebereitung verwendeten Milch pathogene Anaëroben vorhanden waren, so finden dieselben im Käse die günstigen Bedingungen für ihre Entwicklung und Vermehrung und können schon in diesem Nahrungsmittel ihre Stoffwechselprodukte ausscheiden. Durch den Käsegenuß wäre also neben einer endogenen auch eine ektogene Infektion möglich.

Es braucht an dieser Stelle nicht auf die Fälle hingewiesen zu werden, welche diese Anschauungsweise stützen; es braucht nicht das bekannte Tyrotoxikon erwähnt zu werden, u. s. w.

Wir haben nur deshalb diese etwas fernstehende Frage herangezogen, da v. Freudenreich mit einer Mitteilung von 50 wegen Genusses eines an Anaëroben reichhaltigen Käses erkrankten Personen glaubte, den Beweis geliefert zu haben, daß die Anaëroben an der normalen Käsereifung keine Beteiligung haben und ihr Vorhandensein im Käse als etwas Abnormes anzusehen ist. Die Mitteilung von Freudenreich hat leider in keiner Hinsicht große Beweiskraft, da sie sehr mangelhaft ist. Sie ist jedoch insofern interessant, weil sie auf die Möglichkeit einer Darminfektion wegen Genusses von Molkereiprodukten aufmerksam macht. Ferner beweist sie, daß die vorhandenen Anaëroben während der Käsereifung nicht zu Grunde gehen, wie man aus einigen mit *Paraplectrum foetidum* von v. Freudenreich angestellten Versuchen hätte schließen dürfen. Und wichtig ist sie noch, weil die damals gefundenen Anaëroben, welche Erbrechen und Diarrhöe hervorgerufen haben sollen, nach Angabe von v. Freudenreich zur Klasse der Buttersäurebildner gehörten. Sie hatten jedoch im Käse, welcher aller Wahrscheinlichkeit nach normal aussah, keine Blähung hervorgerufen. Dies widerlegt die an gleicher Stelle von v. Freudenreich selbst geäußerte Annahme, welche lautet: „Die Buttersäure-

bildner sind nun meist starke Gasbildner; falls sie sich in einem Käse in großer Menge entwickeln sollten, so würden sie wahrscheinlich auch Blähung hervorbringen.“

Wir haben übrigens in unseren Mitteilungen über das regelmäßige Vorkommen von anaëroben Buttersäurebacillen in 0,5 g Käse berichtet. Unsere Milchuntersuchungen zeigen nun, daß die Anaëroben in genannter Quantität Käse zahlreich sein müssen. In der Tat, wenn wir schon in 0,1 ccm Milch regelmäßig anaërobe Buttersäurebildner nachgewiesen haben, so müssen wir annehmen, daß dieselben in 1 g Käse wenigstens zu Hunderten vorkommen.

Die größeren Schwierigkeiten und die weniger übereinstimmenden Resultate der Untersuchungen auf Anaëroben von kleinsten Käseproben (unter 0,1 g Käse) dürften wohl auf die ungleichmäßige Verteilung der Keime in einem festen Medium zurückgeführt werden. Eine Reihe von Untersuchungen haben wir ferner vorgenommen, um festzustellen, ob der Zusatz vom Lab zur Milch einen schädlichen Einfluß auf die Entwicklung der Anaëroben hätte.

In dem frisch gefällten Kasein wie in der Schotte, sofort nach Zugabe vom Lab wie nach langem Stehen, waren die Anaëroben immer auch in minimaler Menge des untersuchten Materials vorhanden.

Andere Untersuchungen machten wir, um das Schicksal der Anaëroben in der wegen langem Stehenlassen tief veränderten oder sogar faulen Milch zu studieren.

Bekanntlich haben zwei französische Autoren, Tissier und Gasching, dieses Thema eingehend behandelt. Sie konstatierten mittels der Liborius-Veillonschen Methode auf 10 Milchproben 8mal das Vorhandensein von Anaëroben. Die untersuchte Milch war in den verschiedenen Perioden der spontanen Zersetzung.

Mit unserem Anreicherungsverfahren konnten wir auch in der tief veränderten Milch regelmäßig Anaëroben nachweisen und dank der sub IV angegebenen Methode dieselben regelmäßig sogar in 0,1 ccm fauler Milch finden. Die Anaëroben gehören also zu den widerstandsfähigsten Keimen der Milch und der Milchprodukte. Sie widerstehen, wie wir es schon nachgewiesen haben, der Wirkung von Säure und von Alkali. Diese chemischen Mittel sind nur in starken Verdünnungen im stande, die üppige Entwicklung dieser Mikroorganismen zu hemmen. Die Anaëroben widerstehen ferner der Konkurrenz von anderen Bakterienarten und in Symbiose mit diesen bleiben sie sehr lange entwicklungsfähig. Weder die Gärungen, die sich bei der spontanen Zersetzung der Milch abwickeln, noch die entstandenen Gärungsprodukte vermögen die Lebensfähigkeit der Anaëroben wesentlich zu beeinflussen.

Alle diese hier mitgeteilten Befunde liefern den indirekten Beweis, daß die anaëroben Bakterien im Käse ziemlich zahlreich vorhanden sein müssen (wenigstens mehr als 100 auf 1 g Käse), ferner daß sie in diesem Nahrungsmittel immer entwicklungsfähig bleiben.

Der direkte Beweis für diese Tatsachen ist andererseits mit unseren früheren Mitteilungen geliefert worden. Die Frage also

über das Vorhandensein von Anaëroben im Käse muß als endgültig gelöst betrachtet werden.

Anders steht es mit der Beteiligung dieser Lebewesen an der Käsureifung, und so lange wir nicht im stande sein werden, aus sterilisierter Milch den Käse herzustellen, wird diese Frage nie eine mit wissenschaftlicher Sicherheit exakte Antwort finden. Eine befriedigende Antwort dürften dagegen folgende Resultate unserer Untersuchungen geben.

Schon Weigmann und v. Freudenreich hatten die Geruchsbildung der Bakterien als Zeichen einer Beteiligung derselben am Reifungsprozeß der Käse für ein wichtiges Merkmal betrachtet.

v. Freudenreich schreibt in seiner Entgegnung zu meiner 1. Mitteilung: „Wollte man an einer Beteiligung streng anaërober Bakterien am Reifungsprozeß festhalten, so wäre eher an solche zu denken, die durch an Käse erinnernde Gerüche sich auszeichnen, wie Weigmanns *Paraplectrum foetidum* oder mein *Clostridium foetidum lactis*.“

Mit diesem Satze habe ich mich in meiner Antwort auf genannte Entgegnung bereits einverstanden erklärt. Ein anderer Passus desselben Aufsatzes v. Freudenreichs hat aber in mir den Verdacht erregt, daß dieser Autor ganz andere Leistungen von den Anaëroben verlangt, als ich von denselben erwarte. Genannter Passus lautet:

„Außer den Buttersäurebacillen fand ich damals (im Käse) auch eine Bakterienart, die, wie Weigmanns *Paraplectrum foetidum*, sich durch Bildung eines an Limburger erinnernden Geruches auszeichnete.“ In welchem Nährboden der von v. Freudenreich gefundene Mikroorganismus den erwähnten Geruch bildete, wird nicht gesagt.

Da v. Freudenreich, welcher glaubt, daß die Milchsäurefermente fast die ausschließlichen Reifungserreger des Emmentalers sind, ein Anhänger der Theorie der spezifischen Reifungserreger ist, so scheint mir auch die Vermutung berechtigt, daß er an für jede Käsesorte spezifische Geruchsbildner gedacht hat. Mit dieser Anschauungsweise könnte ich mich aber gar nicht einverstanden erklären.

In der Tat, der von einem Mikroorganismus erzeugte Geruch ist von den Begleitbakterien wie von der Beschaffenheit des Nährbodens abhängig. Impft man z. B. gekochtes Eiereiweiß mit *B. putrificus* Bienstock und mit Heubacillen zusammen, die in einer 2-proz. kohlen sauren Natronlösung (oder in anderer alkalischer Lösung) emulsioniert sind, so erinnert diese 2—3-wöchige anaërobe Mischkultur an Gorgonzolakäse. Besteht dagegen diese anaërobe Kultur aus dem *B. putrificus* und aus Säurebildnern, dann ist der Geruch weniger intensiv und ganz anderer Art. Man bekommt alle Nuancen in der Geruchsskala nicht nur mit Anwendung verschiedener Anaërobenarten, sondern auch mit einer und derselben peptonisierenden Art bei Hinzufügung von verschiedenen Begleitbakterien und mit Aenderung der Reaktion des Substrates. v. Freudenreich hat seiner Zeit zugegeben, daß

Bakterien, wie *Clostridium foetidum lactis* und *Paraplectrum foetidum* Weigmann bei der Reifung der Backsteinkäse eventuell beteiligt sein könnten.

Die Beteiligung dieser Bakterien am Reifungsprozeß des Emmentalers wurde dagegen von v. Freudenreich ganz in Abrede gestellt aus folgenden Gründen: 1) daß sie darin nur spärlich vorkommen, 2) daß der Unterschied zwischen dem Aroma des Emmentalers und dem von diesen Bakterienarten hervorgerufenen Geruche ein zu großer ist.

Der erste Grund hat sich als nicht stichhaltig erwiesen und beruhte nur auf mangelhafter Technik.

Der zweite Grund muß aus dem oben Gesagten als ganz unberechtigt angesprochen werden.

Gar nichts steht also gegen die Möglichkeit einer Beteiligung von genannten und von ähnlichen Anaërobenarten an der Reifung sowohl des Emmentalers wie auch der übrigen Käsesorten.

Für diese Möglichkeit spricht andererseits das regelmäßige Vorkommen dieser Anaëroben in jeder Käsesorte und vielmehr der Umstand, daß mit genannten Bakterien nicht nur aus Kasein, sondern auch aus anderen Eiweißstoffen ein dem Käse ähnlicher Geruch hervorgerufen werden kann. Es bleibt einer späteren Abhandlung vorbehalten, die vielen technischen und hygienischen Fragen zu behandeln, die mit der Käsereifung in Beziehung stehen.

Nachtrag.

Nach der Einsendung meines Manuskriptes erschien im „Landwirtschaftl. Jahrb. d. Schweiz“ 1904. Heft 9 eine Arbeit von v. Freudenreich, betitelt: „Ueber die Bakterien im Kuheuter und ihre Verteilung in den verschiedenen Partien des Melkens“. Es kann natürlich hier die interessante und schöne Arbeit Freudenreichs nicht besprochen werden, um so weniger als dieselbe mit der vorliegenden Mitteilung nicht in sehr enger Beziehung steht. Nur eine Bemerkung dürfte mir erlaubt sein. v. Freudenreich schreibt: „Bei der ersten Versuchsreihe habe ich auch anaërobe Kulturen bei 35° angelegt — Schottenagarschüttelkulturen nach Dr. Burri, um etwaige Anaëroben, wie Buttersäurebacillen u. s. w. zu isolieren. Da dieses nun indessen nie gelang, beschränkte ich mich in der Folge auf das Gießen von Gelatineplatten.“ Ob wirklich in den von v. Freudenreich untersuchten Milchproben keine Anaëroben vorhanden waren, bleibe dahingestellt. Ich hoffe durch vorliegende und frühere Mitteilungen nicht nur den Leser, sondern auch v. Freudenreich überzeugt zu haben, daß die Anaërobenkulturen nach Dr. Burri nur in einzelnen Fällen gute Erfolge liefern und nicht als allgemeine Methode für die Anaërobenforschung gelten können. Es sind z. B. auch unter den pathogenen Anaëroben solche, die mit der Burrischen Methode nicht zur Entwicklung kommen. So sei der *Nekrosebacillus* erwähnt, der bekanntlich in Bouillon, Gelatine und auf gewöhnliche Weise zubereiteten Agar

keines Wachstums fähig ist, während er in Milch sehr gut gedeiht. Unter den nicht pathogenen Anaëroben sei hier nur der *Bacillus fusiformis* von Vincent (von Johannes Seitz *Bacillus hastilis* genannt) angezogen, der ebenfalls mit der Burrischen Methode nicht wachsen will. Aber selbst die am leichtesten zum Wachstum gelangenden Anaëroben lassen sich nicht immer durch die von Freudenreich angewandte Technik züchten. Ich habe schon in meiner erwähnten Entgegnung auf Dr. v. Freudenreich darauf hingewiesen, daß selbst die anaëroben Buttersäurebacillen aus einem Material, das sie gärend beherrschen, sehr häufig durch die Anwendung von festen Nährböden, sei es mittels des Plattenverfahrens oder der Burrischen Röhrchen, nicht zu isolieren sind. Dieselben lassen sich aber in anaëroben Milchkulturen leicht weiter züchten und zeigen daselbst eine üppige Entwicklung — was wiederum der Annahme v. Freudenreichs widerspricht, als ob dort, wo die Anwendung von Schottenagarschüttelkulturen nach Dr. Burri versagt hat, ganz besondere Methoden nötig seien, um die Anaërobenarten zu isolieren. v. Freudenreich sagte in seiner Entgegnung: . . . man müßte dann annehmen, daß ganz besondere Methoden noch zu finden seien, um sie (die Anaëroben) zu kultivieren, was aber kaum der Fall sein dürfte, wenn sie im Käse so leicht wüchsen. Diese Vermutung Freudenreichs ist aber nur dann zutreffend, wenn unter den ganz besonderen Methoden auch die einfachen anaëroben Milchkulturen und die anderen in dieser Mitteilung angegebenen Verfahren zuzuzählen sind.

Nachdruck verboten.

Studien über die flüchtigen Fettsäuren im Käse nebst Beiträgen zur Biologie der Käsefermente.

Von Dr. Orla Jensen,

Vorstand der schweizerischen milchwirtschaftlichen Versuchsanstalt.

(Fortsetzung.)

Bacillus casei γ und Bacillus casei δ . Diese zwei Bakterien wollen wir wegen ihrer nahen Verwandtschaft gleichzeitig besprechen. Tabelle XXIII (p. 605) zeigt ihr Verhalten sowohl allein als im Verein mit den schon beschriebenen Kaseinfermenten gegenüber Kasein.

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß *Bacillus γ* und *Bacillus δ* das Kasein nicht merkbar anzugreifen vermögen, daß sie höchstens eine Spur Eiweißzersetzungsprodukte auf Kosten der löslichen Eiweißstoffe bilden. Auf Parakasein habe ich sie nicht eingimpft, weil die von v. Freudenreich mit Reinkulturen dieser Bacillen bereiteten Käse keine Reifung gezeigt hatten. Im Verein mit *Micrococcus casei liquefaciens* verhalten sie sich ver-

Tabelle XXIII.

Eingeimpfte Bakterien	Milchnummer	Aufbewahrungs- temperatur	Alter zur Zeit der Untersuchung	Gefundene Mengen			Gebildete Mengen						
				L. N.	Z. N.	A. N.	L. N.	Z. N.	A. N.	Z. N. in Proz. des L. N.	A. N. in Proz. des L. N.		
Bacillus γ	1 mit Kreide	35° C	3 Mon.	11,62	4,55	0,73	—	3,78	0,26	—	0,03	—	—
„ δ	1 mit Kreide	35° C	3 „	13,63	5,81	1,16	—	1,77	1,52	—	0,40	—	—
Bacillus γ + Micrococcus casei lique- faciens	3 mit Kreide	20° C	5 „	74,93	24,22	2,89	61,13	18,87	—	1,64	30,87	2,68	—
Bacillus δ + Micrococcus casei lique- faciens	3 mit Kreide	20° C	5 „	81,61	13,06	2,09	67,81	7,71	—	0,84	11,37	1,24	—
Bacillus γ + Bacillus α	3 mit Kreide	20° C	5 „	30,14	18,31	3,18	16,34	12,96	—	1,93	—	—	—
Bacillus δ + Bacillus α	3 mit Kreide	20° C	5 „	27,61	15,77	3,31	13,81	10,42	—	2,06	—	—	—
Bacillus γ + Bacillus ϵ	3 mit Kreide	20° C	5 „	38,59	28,73	3,24	24,79	23,38	—	1,99	—	—	—
Bacillus δ + Bacillus ϵ	3 mit Kreide	20° C	5 „	45,63	32,16	4,44	31,83	26,77	—	3,19	—	—	—
Bacillus γ + Bacillus δ + Bacillus α + Bacillus ϵ	3 mit Kreide	20° C	5 „	47,60	33,80	4,93	33,80	28,45	—	3,68	—	—	—

schieden; in der Bacillus γ enthaltenden Mischkultur wird nämlich viel mehr Z. N. gebildet als in der Bacillus δ enthaltenden. Dieses rührt daher, daß Bacillus γ , wie Tabelle XXVI zeigt, aus Pepton viel mehr Eiweißzersetzungsprodukte als Bacillus δ bilden kann. Im Verein mit diesen zwei Bacillen bildet Bacillus α etwas weniger und Bacillus ϵ etwas mehr Z. N. als in Reinkulturen (man darf natürlicherweise nur mit den bei 20° C aufgestellten Reinkulturen [siehe die Tabellen XVII und XX] vergleichen, bei 35° C wird unter den gleichen Verhältnissen gewöhnlich mehr Z. N. und A. N. gebildet). Daß sämtliche andere Käsefermente und ganz besonders der luftbedürftige Micrococcus casei liquefaciens auf die Tätigkeit von Bacillus ϵ fördernd wirken, steht im Einklang mit den anaëroben Eigenschaften des letzteren Bacillus; die anderen Käsefermente werden nämlich die in der Kultur vorhandene und stets wieder eindringende Luft verbrauchen, wodurch Bacillus ϵ sich besser entwickeln kann. In den in der Praxis verwendeten Kulturen von Bacillus ϵ , dem Sauer- und dem Naturlab, kommen auch immer andere Käsefermente vor (am häufigsten Bacillus δ) und dazu milchzuckervergärende Hefe- und Mycoderma-Arten,

welch letztere ganz besonders dazu dienen, den *Bacillus ε* gegen die Luft zu schützen.

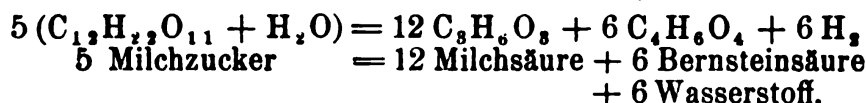
Tabelle XXIV zeigt das Verhalten von *Bacillus γ* und *Bacillus δ* gegenüber Milchzucker:

Tabelle XXIV.

Eingeimpfte Bakterien	Milchnummer	Aufbewahrungstemperatur	Alter zur Zeit der Untersuchung	Vergorener Milchzucker in Proz. des ursprünglichen Milchzuckers	D. Z.	Es : Ps	Sonstige flüchtige Säuren	Flüchtige Säuren in Proz. des vergorenen Milchzuckers
<i>Bacillus γ</i>	1 mit Kreide	35° C	3 Mon.	100	51,5	20	Eine Spur Ameisensäure	5,8
<i>Bacillus γ</i>	1 „ „	20° C	4 „	90,0	31,7	10	do.	4,0
<i>Bacillus δ</i>	1 „ „	35° C	3 „	50,5	41,0	20	do.	9,2
<i>Bacillus δ</i>	1 „ „	20° C	4 „	33,6	10,8	9	do.	3,6
<i>Bacillus γ</i> + <i>Micrococcus casei liquefaciens</i>	3 „ „	20° C	5 „	100	56,0	9	do.	6,0
<i>Bacillus δ</i> + <i>Micrococcus casei liquefaciens</i>	3 „ „	20° C	5 „	51,0	40,0	9	do.	8,4
<i>Bacillus γ</i> + <i>Bacillus α</i>	3 „ „	20° C	5 „	100	34,0	12	do.	3,7
<i>Bacillus δ</i> + <i>Bacillus α</i>	3 „ „	20° C	5 „	100	25,0	18	do.	2,7
<i>Bacillus γ</i> + <i>Bacillus ε</i>	3 „ „	20° C	5 „	100	47,0	10	do.	5,1
<i>Bacillus δ</i> + <i>Bacillus ε</i>	3 „ „	20° C	5 „	100	23,0	13	do.	2,5
<i>Bacillus γ</i> + <i>Bacillus δ</i> + <i>Bacillus α</i> + <i>Bacillus ε</i>	3 „ „	20° C	5 „	100	39,5	13	do.	4,2

Aus dieser Tabelle ersieht man, daß *Bacillus γ* als milchzuckervergärendes Ferment zwischen *Bacterium lactis acidii* und *Bacillus α* liegt und *Bacillus δ* zwischen *Micrococcus casei liquefaciens* und *Bacterium lactis acidii*. Demgemäß vermag *Bacillus δ* die Milch nur bei höherer Temperatur (42° C) zur Gerinnung zu bringen. Bei Zimmertemperatur bildet *Bacillus γ* viel flüchtige Säuren, *Bacillus δ* dagegen wenig. Dieses Verhältnis kommt auch in den Kombinationen mit den anderen Milchsäurefermenten zur Geltung. Bei 35° C bilden sowohl *Bacillus δ* als auch *Bacillus γ* viel flüchtige Säuren, jedoch, wie es scheint, hauptsächlich Essigsäure. Diese zwei Bacillen bilden sonst verhältnismäßig viel Propionsäure und überhaupt viel flüchtige Säuren im Verhältnis zu der vergorenen Zuckermenge (siehe die letzte Kolumne der Tabelle XXIV). Auch schien die Alkoholmenge jedenfalls bei *Bacillus γ* größer als bei den an-

deren Käsefermenten zu sein. Die Menge der Ameisensäure war dagegen immer klein und nie mit der Menge der Propionsäure äquivalent. Dieses steht ohne Zweifel damit in Verbindung, daß *Bacillus* γ und *Bacillus* δ als Hauptprodukt aus dem Milchsucker nicht nur Milchsäure, sondern auch viel Bernsteinsäure bilden. In einer Kultur von *Bacillus* δ fand ich fast halb so viel Bernsteinsäure als Milchsäure, welches folgender Gleichung



nach welcher das Gewichtsverhältnis zwischen Milchsäure und Bernsteinsäure annähernd wie 3:2 ist, nicht übel entsprechen würde, wenn man bedenkt, daß die Bernsteinsäure wegen ihrer Schwerlöslichkeit in Aether nach dem beschriebenen Verfahren kaum in ihrer ganzen Menge gewonnen wird. Da Bacillus γ und Bacillus δ das Kasein nicht angreifen, muß die ganze Menge Bernsteinsäure aus dem Milchzucker entstanden sein.

Wie *Bacillus ε* bilden auch *Bacillus γ* und *Bacillus δ* inaktive Milchsäure. Dieses geht aus der folgenden Tabelle hervor, in welcher die Zusammensetzung der aus den Milchkulturen dargestellten Zinklaktate angeführt ist:

Tabelle XXV.

Eingeimpfte Bakterien	Aufbewahrungstemperatur	Proz. H ₂ O	Proz. ZnO
<i>Bacillus</i> γ	35° C	18,2	27,4
" γ	20° C	18,0	—
" δ	35° C	18,3	—
" δ	20° C	18,1	27,1

Wir haben jetzt Gelegenheit gehabt, bekannt zu werden mit drei Milchsäurefermenten der Molkereigewerbe, die inaktive Milchsäure bilden und von denen zwei, nämlich *Bacillus* γ und ganz besonders *Bacillus* ϵ , kräftigere Säurebildner als das gewöhnliche *Bacterium lactis acidii* sind. Da man in spontan geronnener Milch hauptsächlich inaktive Milchsäure findet, so liegt der Gedanke nahe, daß in solcher Milch *Bacillus* γ und *Bacillus* ϵ oder verwandte Arten nach und nach die Oberhand gewinnen. Daß diese Milchsäurefermente noch nicht in spontan geronnener Milch gefunden worden sind, bedeutet nichts, denn bei den diesbezüglichen Untersuchungen hat man sich gewöhnlich der Gelatineplatten bedient, und auf solchen wächst *Bacillus* ϵ gar nicht. Die Leichmannsche Hypothese von der Entstehung der inaktiven Milchsäure in spontan geronnener Milch, nämlich durch eine Verbindung der von *Bacterium lactis acidii* erzeugten Rechtsmilchsäure mit der von anderen Fermenten gebildeten Linksmilchsäure, erklärt wohl, weshalb ein Teil, aber nicht weshalb die Hauptmenge der in spontan geronnener Milch vorkommenden Milchsäure inaktiv ist, denn die Linksmilchsäurebakterien erzeugen bei Zimmertemperatur nur wenig Milchsäure.

Nach obenstehender Gleichung müssen *Bacillus* γ und *Bacillus* δ aus dem Milchzucker Gas entwickeln. Dieses tun sie in der Tat auch. Sie rufen zwar keine stürmische, direkt zu erkennende Gärung in milchzuckerhaltigen Nährlösungen hervor, nur in besonderen Gärapparaten, wie z. B. in demjenigen von Prof. Schaffer und noch besser in hohen Schichten von Milchzucker-agar, sieht man, daß Gas entsteht. Dieses Gas ist brennbar und besteht daher in Uebereinstimmung mit der Gleichung wahrscheinlich aus Wasserstoff.

Nach den Versuchen v. Freudenreichs rufen Reinkulturen von *Bacillus* δ und noch mehr von *Bacillus* γ im Käse Blähung hervor; es scheint daher gefährlich, wenn diese Bakterien oder wenigstens *Bacillus* γ gleich von Anfang an in großer Menge in den Emmentalerkäsen vorhanden sind. Später, wenn der Milchzucker verschwunden ist, dürfte die Entwicklung dieser 2 Bakterien dagegen erwünscht sein, denn auch aus Bernsteinsäure können sie Gas erzeugen und damit zu der normalen Lochbildung beitragen. Aus 100 ccm Peptonbouillon mit bernsteinsaurem Kalk versetzt, bildete *Bacillus* γ 9 ccm Gas und *Bacillus* δ 5 ccm. Die folgende Tabelle zeigt die durch diese Bakterien in Milchsäure und Bernsteinsäure enthaltender Bouillon im Laufe von 3 Monaten bei 35° C hervorgerufenen Veränderungen. Glycerin wird von *Bacillus* γ und *Bacillus* δ nicht angegriffen.

Tabelle XXVI.

Eingeimpfte Bakterien	Peptonbouillon mit	D. Z.	Es : Ps	Sonstige flüchtige Säuren	Gebildete Mengen	
					Z. N.	A. N.
<i>Bacillus</i> γ	milchsaurem Kalk	32,5	9	Eine Spur Ameisensäure	6,62	1,07
" δ	" "	3,0	9	desgl.	1,28	0,96
" γ	bernsteinsaurem Kalk	3,5	8	desgl.		
" δ	" "	2,0	8	desgl.		

Nächst *Micrococcus casei liquefaciens* ist *Bacillus* γ dasjenige der untersuchten Käsefermente, das den milchsauren Kalk am stärksten vergärt, und wie bei den anderen Milchsäurefermenten wird daraus Essigsäure und Propionsäure im gleichen Verhältnis wie aus dem Milchzucker gebildet. Da aus der Bernsteinsäure mehr Essigsäure als Propionsäure und verhältnismäßig viel Gas entsteht, so ist die Gärung dieser Säure nicht als eine einfache Spaltung in Propionsäure und Kohlensäure aufzufassen.

In ihrem Verhalten gegenüber Milchzucker erinnern *Bacillus* γ und *Bacillus* δ an die Bakterien der Aërogenes-Gruppe. Sie wachsen jedoch in Stichkulturen wie die echten Milchsäurebakterien, ohne sich an der Oberfläche auszubreiten. Da es Interesse haben kann, eine Aërogenes-Art zum Vergleich heranzuziehen, habe ich einen allem Anschein nach echten *Bacillus lactis aërogenes*, den ich sehr häufig in Butter angetroffen habe, in Milch geimpft und diese Kultur nach 3 Monaten

Aufbewahrung bei 35° C untersucht. Die folgenden Tabellen zeigen, daß diese Bakterie nicht mehr Kasein und Milchzucker umzubilden vermag als *Bacterium lactis acidi*:

Tabelle XXVII.

	Gefundene Mengen			Gebildete Mengen		
	L. N.	Z. N.	A. N.	L. N.	Z. N.	A. N.
Milch 2 mit Kreide	17,47	10,57	5,40	4,60	5,05	4,53

Tabelle XXVIII.

	Säure-grad	Milchzucker in Proz. der Milch		Vergorener Milchzucker in Proz. des ursprünglichen Milchzuckers	D. Z.	Es : Ps	Sonstige flüchtige Säuren	Flüchtige Säuren in Proz. des vergorenen Milchzuckers
		Nicht vergoren	Vergoren					
Milch 2 mit Kreide	Alkalisch	0,45	4,69	91,2	34	3	Eine Spur Ameisensäure	4,1

Die Kultur war zur Zeit der Untersuchung stark fadenziehend, sie enthielt deutliche Mengen Alkohol und soviel flüchtige Säuren, wie eine in gleicher Weise behandelte Kultur von *Bacillus α*. Milchsäure und Bernsteinsäure ließen sich darin nicht nachweisen. Da *Bacillus lactis aërogenes* jedoch nach O. Emmerling¹⁾ Bernsteinsäure bilden soll, ist es anzunehmen, daß dieselbe weiter vergoren war; hierfür spricht die verhältnismäßig große Menge von Propionsäure. Da nur 4,1 Proz. des vergorenen Milchzuckers in Säuren umgebildet worden waren, muß aus dem Rest desselben Alkohol, Gase (diese Bakterie ruft in milchzuckerhaltigen Lösungen eine stürmische Gärung hervor) und vor allem die von O. Emmerling²⁾ näher studierte galaktanähnliche Substanz, welche der Kultur ihre fadenziehende Beschaffenheit verleiht, entstanden sein.

Diese Untersuchungen haben ergeben, daß die im Emmentalerkäse am häufigsten vorkommenden Bakterien alle, oder, wenn man will, mit Ausnahme von *Micrococcus casei liquefaciens*, echte Milchsäurefermente sind, die sich mit milchsaurem Kalk als einzige Kohlenstoffquelle begnügen können. Letzteres dürfte wohl gerade ein Merkmal typischer Käsefermente sein, denn im Käse steht nur an den allerersten Tagen den Bakterien Milchzucker zur Verfügung.

Morphologisch kann man diese Käsefermente in 3 Gruppen teilen, nämlich in Kokken (*Micrococcus casei liquefaciens*), Kurzstäbchen (*Bacterium lactis acidi* und *Bacillus casei α*) und Langstäbchen (*Bacillus casei ε*, *Bacillus casei γ* und

1) Berl. Ber. Bd. XXXIII. 1900. p. 2478.

2) l. c.

Bacillus casei d). Die zwei ersten Gruppen bilden in Milch Rechtsmilchsäure, die letztere inaktive Milchsäure. Gegenüber Kasein verhalten *Bacillus* α und *Bacillus* ϵ sich in ähnlicher Weise, und diesen zwei Fermenten ist die Bildung der großen Menge der im Emmentalerkäse vorkommenden Eiweißzersetzungsprodukte zu verdanken, während die Bildung der löslichen Proteinstoffe in erster Linie dem *Micrococcus casei liquefaciens* zugeschrieben werden muß.

Alle diese Bakterien können zur Bildung von Essigsäure und Propionsäure im Käse beitragen. In den Milchkulturen wurde freilich im Verhältnis zu der Trockensubstanz mehr Essigsäure und weniger Propionsäure als im Käse gebildet, dieses stimmt aber nur damit überein, daß man in Milch verhältnismäßig mehr Milchsäure hat, der mit oder ohne Milchsäure als Uebergangsglied die Hauptquelle der Essigsäure ist, und im Käse verhältnismäßig mehr Proteinstoffe, die mit Bernsteinsäure als Uebergangsglied Material zur Bildung von Propionsäure liefern können. Daß Milchsäure unter streng anaëroben Bedingungen, wie sie im Innern eines Käses vorkommen, sich direkt zu Propionsäure reduzieren ließe, liegt auch im Bereiche der Möglichkeit.

Welchen von den beschriebenen Käsefermenten die Hauptrolle bei der Bildung der flüchtigen Säure im Emmentalerkäse zukommt, ist nur durch direkte Versuche mit Käse zu entscheiden, denn die Lebensbedingungen im Käse und in den Milchkulturen sind zu verschieden, um Schlüsse bezüglich der Mengenverhältnisse aus dem einen für die anderen zu ziehen. Wie erwähnt, ist *Micrococcus casei liquefaciens* zur Zeit der Lochbildung und also auch zu der Zeit, wo die flüchtigen Säuren am reichlichsten entstehen, stark in Abnahme begriffen, ja oft gar nicht mehr am Leben. Es wäre jedoch übereilt, gleich aus diesem Grunde dem *Micrococcus casei liquefaciens* jeden Anteil an der Bildung von Löchern und Propionsäure im Emmentalerkäse abzusprechen. Bedenkt man nämlich, daß diese Kokken in den ersten Tagen nach der Herstellung der Käse sich so stark vermehren, daß sie viele Millionen, ja in den äußeren Schichten sogar Milliarden per Gramm Käse ausmachen, so ist es nicht anzunehmen, daß die von dieser Unmenge von Bakterienleibern schon während des Lebens ausgeschiedenen Enzyme und die nach dem Tode noch in ihrem Innern vorhandenen Enzyme (und darunter besonders die Enzyme der echten Gärungen), nachdem sie das Protoplasma und vielleicht auch die Zellwände aufgelöst haben und dadurch frei geworden sind, sich nicht geltend machen. Bei der Herstellung von alkoholischen Getränken setzt sich nach der Gärung die Hauptmenge der Hefezellen ab und wird entfernt. Nichtsdestoweniger unterliegen Bier und Wein bei der Lagerung weiteren Veränderungen, die für ihr Aroma von größter Bedeutung sind. Diese wurden früher ausschließlich als rein chemische Vorgänge aufgefaßt, heutzutage ist es jedoch wahrscheinlicher, anzunehmen, daß sie zum größten Teil den während der Hauptgärung ausgeschiedenen Enzymen und den

abgeschwächten und somit abnorm funktionierenden Hefezellen¹⁾, die noch zurückgeblieben sind, zu verdanken sind. In wie viel höherem Grade müssen nicht die zerfallenden Bakterienleiber auf die Käsemasse einwirken, weil sie sich hier nicht entfernen lassen, sondern immer in innigster Mischung mit derselben bleiben. Begünstigend für die Wirkung der freigewordenen Endoenzyme ist, wie ich bereits in meiner Arbeit über Enzyme im Käse hervorgehoben habe, der geringe Wassergehalt der Käse, denn die Endoenzyme, welche der Konzentration des Zellsaftes angepaßt sind, wirken, wie man bei der Zymase beobachtet hat, weniger gut in verdünnten Flüssigkeiten. In einer kürzlich erschienenen Arbeit von Harrison und Connell²⁾ ist gezeigt worden, daß im Cheddarkäse eine Vermehrung der Bakterien nur in der allerersten Zeit stattfindet, und berücksichtigt man, daß das Leben der Milchsäurebacillen mit milchsauren oder bernsteinsauren Salzen als einziger Kohlenstoffquelle im Verhältnis zum Leben in milchzuckerhaltigen Nährböden nur ein kümmerliches ist, so wird es wahrscheinlich, daß auch in anderen Hartkäsen die Reifungserreger sich nach der Vergärung des Milchzuckers nicht weiter vermehren, woraus folgen würde, daß der ganze Reifungsprozeß der Hartkäse vornehmlich durch die Enzyme der in den allerersten Tagen gebildeten Bakterienleiber vor sich gehe. Mit dieser Hypothese würde der scheinbare Widerspruch, in welchem die Versuche von Babcock und Russel zu der allgemeinen Auffassung der Käsereifung stehen, verschwinden. Babcock und Russel³⁾ haben nämlich gezeigt, daß Cheddarkäse bei Temperaturen um 0° herum noch ganz gut reifen können, und schließen daraus gegen die allgemeine Auffassung der Käsereifung, daß Bakterien für die Reifung der Hartkäse nicht notwendig sind, und daß dieser Prozeß nur der Wirkung der Galaktase und des Pepsins zuzuschreiben ist. Indessen haben diese Forscher nicht berücksichtigt, daß die Käsemasse schon während der Fabrikation, des Pressens und des Versendens zu den Kühlkellern so reich an Bakterien geworden war, daß die Enzyme derselben vielleicht ausreichen würden, um die Reifung zu vollführen. Nachdem bewiesen ist, daß die Kuhmilch schon im Euter verflüssigende Kokken beherbergt, muß man sich auch skeptisch dazu verhalten, ob die Galaktase wirklich ein natürliches (d. h. ein von der Kuh herrührendes) Milchenzym oder ob es nicht von den verflüssigenden Kokken im Euter gebildet worden ist. Im letzteren Falle wäre die Galaktasewirkung im Grunde genommen auch den Bakterien zu verdanken.

Daß speziell Emmentalerkäse nicht bei ganz niedriger Temperatur reifen kann, hat v. Freudenreich⁴⁾ gezeigt, und aus der

1) Die Verflüssigung der Gelatine in alten Hefekulturen ist ein deutliches Beispiel von der abnormen Funktion abgeschwächter oder toter Hefezellen.

2) *Revue générale du lait*. Bd. III. 1903. p. 80.

3) *Eighteenth Annual Report of the Wisconsin Agricultural Experiment Station*. 1901.

4) *Landw. Jahrb. d. Schweiz*. 1902. p. 347.

Praxis weiß man, daß eine Temperatur von mindestens 18—20° C für die in dieser Käsesorte stattfindende Lochbildung notwendig ist. Bei letzterem Vorgang ist anzunehmen, daß *Bacillus* γ und *Bacillus* δ eine Rolle spielen, weil sie aus Bernsteinsäure Gas erzeugen können¹⁾. Auch dürfte *Bacillus* γ hierbei besonders in Betracht kommen, weil er nächst *Micrococcus casei liquefaciens* den milchsauren Kalk am stärksten vergärt. Nach *Bacillus* γ kommt in dieser Beziehung *Bacillus* α . Freilich haben keine der untersuchten Käsefermente im Schafferschen Gärapparate, mit Peptonbouillon gefüllt, die mit milchsaurem Kalk versetzt war, sichtbare Mengen Gas gebildet. Indessen darf man nicht übersehen, daß so kleine Kohlensäuremengen, wie sie für die normale Lochbildung erforderlich sind²⁾, von der Bouillon, besonders wenn in derselben auch Ammoniak entsteht, mit Leichtigkeit absorbiert werden können. In festen und nicht porösen Substraten, wie im Käse und in hohen Schichten von Agar oder Gelatine, kommen dagegen solche kleine Gasmengen zum Vorschein. Der geringe Wassergehalt und die dichte Konsistenz des Emmentalerkäses bewirken, daß nur wenig Gas absorbiert wird und kein Gas wirkungslos entweicht, daher bekommt auch kein anderer Käse so große Löcher, und aus diesem Grunde richten bei keinem anderen Käse die Blähungen so viel Schaden an. Daß die normale Lochbildung (im Gegensatz zu den Blähungen) überhaupt ein wenig energischer, nur langsam verlaufender Prozeß ist, geht daraus hervor, daß die Temperatur eines Emmentalerkäses während der Lochbildung nach meinen Untersuchungen nur einige Zehntelgrade steigt.

Fassen wir die neuen Ergebnisse dieser Untersuchungen zusammen, so läßt sich aus denselben schließen:

1) Die flüchtigen Säuren im Emmentalerkäse bestehen in der Hauptsache aus Essigsäure und Propionsäure, die aller Wahrscheinlichkeit nach auf Kosten der Milchsäure und Bernsteinsäure gebildet werden. (Wie gezeigt wurde, wird die Hauptmenge der flüchtigen Säuren zu einer Zeit gebildet, wo der Milchzucker verschwunden ist, weshalb nur der geringste Teil dieser Säuren direkt aus dem Milchzucker entsteht.)

2) Die Gase, welchen die Lochbildung ihre Entstehung verdankt, werden gleichzeitig mit der Hauptmenge der flüchtigen Säuren gebildet, entweder ausschließlich durch dieselben Gärungen oder

1) Die Möglichkeit ist indessen nicht ausgeschlossen, daß die von *Bacillus* δ und besonders von *Bacillus* γ hervorgerufene Gasentwicklung für die normale Lochbildung gewöhnlich zu energisch verlaufe, und daß diese Bakterien daher immer zu fürchten seien, indem sie nicht nur Blähung, wenn viel Milchzucker vorhanden wäre, sondern vielleicht auch Nachgärung bei Anwesenheit von viel Bernsteinsäure hervorrufen könnten.

2) Nach meinen früheren Berechnungen (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. 1898. p. 274) macht das Volumen sämtlicher Löcher eines 100 kg schweren idealen Emmentalerkäses nicht ganz 1 l aus.

auch zum Teil durch Spaltung gewisser Eiweißzer-
setzungsprodukte.

Edamerkäse.

Aus Tabelle I ist ersichtlich, daß die Umbildung des Kaseins in einem reifen Edamerkäse nicht weiter vorgeschritten ist als in einem ganz jungen Emmentalerkäse. Da die Rinde des Edamer-
käses tot ist, d. h. trocken und undurchlässig, habe ich meine Untersuchungen auf die innere Masse beschränkt. In der von mir analysierten Probe war die Säurezahl des nach dem Salzsäurever-
fahren gewonnenen Fettes nicht größer als die Säurezahl ganz frischen Butterfettes, weshalb man die daraus entstandenen flüch-
tigen Säuren völlig außer Betracht lassen kann. Das saure Destillat
roch nur sehr schwach nach höheren Fettsäuren, es hatte dagegen einen angenehmen esterartigen Geruch (wahrscheinlich nach Essig-
ester), gab eine deutlichere Jodoformreaktion als das Destillat der
meisten anderen Käsesorten und hatte die Esterzahl 1,3 ($\text{ccm } \frac{n}{10}$
Lauge auf 100 g Käse berechnet). Die Destillationszahl betrug nur
15,6, also nicht viel mehr als diejenige eines Emmentalerkäses vor
der Lochbildung. Um die flüchtigen Säuren zu trennen, teilte ich
nach dem beschriebenen Verfahren die von 200 g Käse herrührende
Barytsalzlösung in 3 annähernd gleich große Fraktionen und frak-
tionierte dieselben weiter nach Duclaux. Die durch diese Proze-
duren gewonnenen Zahlen sind folgende:

(Siehe Tabelle p. 614.)

Die drei Fraktionen ergaben somit nur Propionsäure, Essig-
säure und Ameisensäure, und das Verhältnis Es:Ps war 3,7. In
Uebereinstimmung hiermit bewegte sich der Silbergehalt der ver-
schieden Silbersalzfraktionen auch nur von 63,0—64,1 Proz.

In einem zweiten untersuchten Edamerkäse wurde noch weniger
Propionsäure und nur eine Spur Ameisensäure gefunden, die Analyse
ergab nämlich auf 100 g Käse berechnet:

$$1,7 \text{ Ps} + 13,3 \text{ Es} = 15 = \text{D. Z.}$$

also ein Verhältnis Es:Ps = 8, d. h. wie diejenigen in den Milch-
säurefermentkulturen gefundenen. Nach Boekhout und de
Vries¹⁾ findet man auch im Edamerkäse ähnliche Milchsäure-
fermente wie im Emmentalerkäse.

Schweizerischer Magerkäse.

Schweizerischer Magerkäse zeigt, trotzdem er ein Hartkäse ist,
in mehreren Beziehungen Aehnlichkeit mit den Weichkäsen. So
enthält er, wie es aus der Tabelle I hervorgeht, viel wasserlösliche
Proteinstoffe und Ammoniak, sonst aber nur wenig Eiweißzer-
setzungsprodukte. Tabelle II zeigt, daß der größte Teil des Fettes
der Magerkäse gespalten wird. Demgemäß enthalten die Mager-
käse (wenigstens die aus von Hand abgerahmter Milch bereiteten)

1) Vereeniging tot Exploitatie eener Praefzuivelboerderij te Hoorn 1900.

[illegible]

1) Die 1. Fraktion wurde immer zu der nächsten Hauptfraktion gelangt.

auch mehr Capron- und Buttersäure als die zwei vorhergehenden Käsesorten.

Als erstes Beispiel wollen wir die innere Masse eines 1 Jahr alten, aus von der Hand abgerahmter Milch bereiteten Käses besprechen. Diese enthielt 7,12 Proz. Fett und das letztere hatte die (reduzierte) Säurezahl der nicht flüchtigen Säuren von 122. Nach meiner Formel läßt sich daraus berechnen, daß die in 100 g Käse vorkommende, von der Fettspaltung herrührende Capron- und Buttersäure 5,5 bzw. 11 ccm $\frac{n}{10}$ Lauge entsprechen. Zur Darstellung

der Silbersalze wurden 400 g Käse destilliert, und die aus diesem Destillat gewonnenen Barytsalze wurden in bedeutend mehr als der zum Verhindern des Auskristallisierens des Baryumnitrats nötigen Wassermenge, nämlich in 100 ccm Wasser, aufgelöst. In dieser Weise vermeidet man fast vollständig die Ausscheidung von propionsaurem und essigsäurem Silber (deren Menge man gleichwohl nicht nach der Silbersalzmethode feststellen kann) und bekommt somit die Silbersalze der höheren flüchtigen Fettsäuren in einem reineren Zustande. Da der vorliegende Käse die Destillationszahl von nur 34 besaß, so reichten 14 ccm normale Silbernitratlösung aus, um die Barytsalze in Silbersalze umzubilden. Diese Lösung wurde in Portionen von 4, 5 und 6 ccm zugesetzt; nur die zwei ersten Portionen riefen Niederschläge hervor. Die Menge und Zusammensetzung der letzteren ist aus folgender Tabelle ersichtlich.

Tabelle XXIX.

Nummer der Fraktion	Milligramm Silbersalz	Proz. Silber in den Silbersalzen	Der Silbergehalt entspricht folgenden Gewichtsverhältnissen	Aus den Gewichtsverhältnissen lassen sich folgende Anzahl Milligramm der einzelnen Silbersalze berechnen		
				Caprylsaures Silber	Capronsaures Silber	Buttersaures Silber
I	458,4	48,05	Caprylsaures Ag: CsAg : BsAg 2 : 7 : 1	91,7	322,9	45,8
II	353,2	53,96	CsAg : BsAg 1 : 4	—	70,7	282,5
Die 108 ccm Wasser können bei 20° C in Lösung halten				—	84,2	523,8
Summa				91,7	477,8	852,1
Das Gewicht der einzelnen Silbersalze entspricht ccm $\frac{n}{10}$ Säure				3,6	21,4	43,7
Die ccm $\frac{n}{10}$ Säure auf 100 g Käse umgerechnet				0,9	5,4	10,9

(Fortsetzung folgt.)

Die im Miste vorkommenden Bakterien und deren physiologische Rolle bei der Zersetzung desselben.

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch-agronomischen Station der kaiserlich russischen Akklimatisationsgesellschaft für Pflanzen und Tiere in Moskau.]

Von S. A. Severin.

(5. Mitteilung.)

In vorliegender Abhandlung sollen noch einige Versuche mitgeteilt werden, welche hauptsächlich zwecks einer Kontrolle und zur Ergänzung der früheren, in den vorangegangenen 4 Arbeiten unter demselben Titel⁴⁾ beschriebenen Versuche angestellt wurden. In den ersten 2 nachstehenden Versuchen hatten wir uns zur Aufgabe gestellt, den Unterschied im Verlaufe der ammoniakalischen Gärung des Mistes aufzuklären, einerseits in dem Falle, wo der Harn in der Versuchsportion des Mistes mittels der Chamberland-Kerze keimfrei gemacht war, andererseits wenn derselbe Harn einer Sterilisation im Autoklaven ausgesetzt worden war. Die Versuchsportionen waren, wie auch zuvor, zusammengesetzt aus 150 g Pferdekot, 15 g Stroh, 50 ccm Wasser und 50 ccm Pferdeharn, wobei in dem Versuch 1 dieses ganze Gemenge in einem aparten, durch einen Stopfen mit gasableitenden Schläuchen abgeschlossenen Kolben im Autoklaven bei 2 Atmosphären $\frac{3}{4}$ Stunden hindurch sterilisiert worden war. In dem Versuch 2 wurde dieses Gemenge ebenfalls sterilisiert, mit Ausnahme nur der 50 ccm Harn, welcher, anstatt der Sterilisation im Autoklaven, durch die Chamberland-Kerze filtriert wurde, wonach dann dieser filtrierte Harn, in einer Menge von 50 ccm, unter allen Kautelen vor Verunreinigung in den Kolben mit dem sterilisierten Mistgemenge gebracht wurde. Kot und Harn wurden für beide Versuche zu einer Zeit von einem Pferde entnommen, auch in jeglicher anderer Beziehung wurden natürlich die gleichen Bedingungen eingehalten. Der abfiltrierte Harn hatte vor Einbringung in das Mistgemenge 10 Tage lang im Thermostaten gestanden und war die ganze Zeit hindurch klar geblieben, Aussaaten auf Platten hatten auch seine Sterilität erwiesen. In Erwartung dieser 10-tägigen Prüfung des Harns wurden die bereits fertigen und sterilisierten Mistportionen nicht in die Apparate eingeführt (siehe die Beschreibung in den früheren Arbeiten), nach Verlauf aber von 10 Tagen, als der abfiltrierte Harn in den Kolben des 2. Versuches gebracht wurde, wurden beide Kolben am 27. Nov. 1900 in die Apparate eingeführt und hatte demnach der Versuch begonnen. Während der ersten 5 Tage der Wirkung der Apparate blieben die Mistportionen ohne Impfung, am 2. Dez. wurden beide Portionen

4) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. 1895. No. 3, 22/23.; 1897. No. 23/24; 1901. No. 11.

mit $\frac{1}{2}$ ccm frischer Bouillonkultur des *B. pyocyaneus* geimpft.
Das Resultat ist in Ziffern wie folgt:

Tabelle I.

Datum der Gewichts- bestimmung	1. Versuch mit sterilisiertem Harn	2. Versuch mit filtriertem Harn
	Menge der ausgeschiedenen CO_2 in Gramm.	
2. Dezember 1900	0,0776	0,0630
7. "	0,8622	0,9880
12. "	1,3834	1,6224
17. "	1,2726	1,1358
22. "	1,0656	1,1792
27. "	1,0118	0,6100
Gesamtmenge in 30 Tagen	5,6732	5,5984
1. Januar 1901	0,3598	0,2512
6. "	0,2584	0,2342
11. "	0,2956	0,1978
16. "	0,3430	0,1402
21. "	0,2230	0,1274
26. "	0,1492	0,0956
Gesamtmenge in 30 Tagen	1,6290	1,0464
31. Januar	0,0946	0,0854
5. Februar	0,1238	0,0816
Gesamtmenge in 70 Tagen des Versuchs	7,5206	6,8118
Während des ganzen Ver- suchs NH_3 ausgeschieden	0,02642	0,04235

Wie aus dieser Tabelle zu ersehen ist, ist aus den Apparaten ungefähr die gleiche Menge CO_2 ausgeschieden worden; in dem Versuche mit sterilisiertem Harn sind ca. 10 Proz. mehr CO_2 zur Ausscheidung gekommen, als bei dem mit filtriertem Harn. Der Verlauf der CO_2 -Ausscheidung in beiden Apparaten war gleichfalls derselbe, das Maximum der CO_2 -Ausscheidung trat 10 Tage nach der Impfung ein, im weiteren Verlaufe verringert sich allmählich die Menge der CO_2 -Ausscheidung; mit einem Wort, der Verlauf der CO_2 -Ausscheidung ist genau derselbe, wie er stets bei den früheren Versuchen konstatiert worden war. Was die NH_3 -Ausscheidung anlangt, so ist hier die Differenz bereits sehr merklich, denn bei dem Versuch mit filtriertem Harn ist ca. 37 Proz. mehr NH_3 zur Ausscheidung gelangt als bei dem sterilisierten. Was die Konsequenz der NH_3 -Ausscheidung anlangt, so benutzten wir als Kriterium, gleichwie in sämtlichen früheren Versuchen, den Farbenwechsel von gelb auf rosa in dem ersten U-förmigen Röhrchen mit titrierter H_2SO_4 . Bei dem Versuch mit sterilisiertem Harn trat diese Sättigung der H_2SO_4 in dem ersten U-förmigen Röhrchen 43 Tage nach Beginn des Versuches ein (die U-förmigen Röhrchen werden stets mit 6 ccm titrierter H_2SO_4 gefüllt), zum 2. und letzten Male nach 17 Tagen; bei dem Versuch mit filtriertem

Harn trat die Sättigung ein zum 1. Male nach 37, zum 2. Male nach 10 und zum 3. und letzten Male nach 11 Tagen; somit verlief bei diesem letzten Versuche die NH_3 -Ausscheidung aus dem Miste etwas schneller als bei dem mit sterilisiertem Harn. Im allgemeinen bleibt der Charakter der NH_3 -Ausscheidung auch bei diesen Versuchen der nämliche, wie er in sämtlichen früheren Versuchen konstatiert worden war, d. h. daß zur Zeit der größten CO_2 -Ausscheidung aus dem Miste die NH_3 -Ausscheidung die allgeringste ist; letztere wird nur dann stärker, wenn erstere merklich schwächer wird. Das Aussehen der Mistportionen nach Schluß des Versuches ist das nämliche, der Mist ist stark dunkler geworden, stellenweise ganz schwarz, seine Feuchtigkeit ist ungefähr dieselbe geblieben wie vor dem Versuch, beide Portionen verbreiten einen starken ammoniakalischen Geruch, die wässerigen Auszüge sind dunkel, von alkalischer Reaktion; Aussaaten auf Platten erwiesen, daß beide Mistportionen nach Schluß des Versuches vollkommen steril waren. Demnach ist der *B. pyocyaneus* während der 2-monatigen Vegetation im Miste abgestorben. Vergleichen wir nun den Versuch 1 mit einem ganz gleichen vor 7 Jahren angestellten (s. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. 1897. No. 23/24), so werden wir zwischen ihnen eine sehr nahe Uebereinstimmung finden: In dem früheren Versuche wurden innerhalb 65 Tagen 8,2960 g CO_2 ausgeschieden, in dem hier behandelten innerhalb 70 Tagen 7,5206 g, NH_3 im ersten Falle 0,0245 g, im zweiten 0,0264 g, der Farbenwechsel des ersten U-förmigen Röhrchens in dem früheren Versuch trat zum 1. Male nach 33 Tagen ein, zum 2. Male nach 20 Tagen, in dem vorliegenden Versuche nach 43 und 17 Tagen; schließlich kam es in dem früheren Versuche ebenfalls zu einem völligen Absterben der *B. pyocyaneus*-Kultur im Miste, wie das auch in dem behandelten Versuche konstatiert wurde.

Somit kann man auf Grund der angeführten Versuche aussprechen, daß die Art und Weise der Sterilisation des Harns den konsekutiven ammoniakalischen Gärungsprozeß merklich beeinflusst in dem Sinne, daß der filtrierte Harn bei der Gärung eine größere Menge NH_3 frei macht als der sterilisierte; das erklärt sich am Wahrscheinlichsten dadurch, daß bereits während der Sterilisation der Mistmasse ein gewisser Teil des Harns mit Verlust von NH_3 sich zersetzt. Ein Einfluß der Sterilisationsmethode des Harns auf die CO_2 -Ausscheidung im Miste ist schwer zu konstatieren, offenbar ist dieser Einfluß nicht groß und verliert sich in den großen Ziffern der CO_2 -Ausscheidung aus dem Miste.

Es für notwendig erachtend, den Versuch zur Klärung des Einflusses der Sterilisationsmethode des Harns zu wiederholen, stellten wir einen dem vorigen ganz analogen Versuch an, aber nur mit Verimpfung einer anderen Reinkultur, und zwar eines in den vorigen Arbeiten sub No. 2 beschriebenen Mikroben, welcher ebenfalls ammoniakalische Harngärung erzeugt. Das Resultat dieses Versuches in Ziffern enthält Tabelle II:

Tabelle II.

Datum der Gewichts- bestimmung	3. Versuch mit sterilisiertem Harn	4. Versuch mit filtriertem Harn
	Menge der ausgeschiedenen CO ₂ in Gramm.	
10. März	0,0846	0,0640
15. „	0,0528	0,0490
20. „	0,0606	0,0510
25. „	0,1036	0,0464
30. „	0,1242	0,0516
4. April	0,2104	0,0418
9. „	0,2540	0,0542
In 35 Tagen des Versuchs	0,8902	0,3580
Während des ganzen Ver- suchs NH ₃ ausgeschieden	0	0

Der Versuch wurde am 5. März begonnen, doch die ersten 10 Tage blieben die Mistportionen ohne Impfung (zwecks einer nochmaligen Kontrolle der Sterilität des filtrierten Harns), die Impfung mit einer Bouillonkultur des Mikroben No. 2¹⁾ in einer Menge von je $\frac{1}{2}$ ccm geschah am 5. März. Doch diese Impfung blieb in dem Versuche mit filtriertem Harn ohne jegliche Wirkung, die ausgeschiedenen CO₂-Mengen blieben dieselben, wie ohne Impfung; hierauf wurde am 25. März von neuem geimpft, doch auch die wiederholte Impfung erhöhte nicht die CO₂-Ausscheidung; am 9. April wurde der Versuch abgebrochen. Es unterlag keinem Zweifel, daß der Mikrobe No. 2 im Miste nicht zur Entwicklung kam; Aussaaten, welche aus dem Miste nach dem Versuche unternommen wurden, bestätigten vollauf das Gesagte. In dem Versuche mit sterilisiertem Harn war die CO₂-Ausscheidung zwar eine etwas größere, aber dennoch eine außerordentlich schwache; in diesem Versuche haben wir genau ebenso am 25. März die Impfung wiederholt, Aussaaten nach dem Versuche haben die Anwesenheit einer sehr geringen Anzahl von Keimen des Mikroben No. 2 im Miste erwiesen. NH₃ wurde weder in dem einen noch in dem anderen Versuche ausgeschieden. Vergleichen wir jedoch diesen Versuch mit einem ganz analogen, bereits im Jahre 1893 angestellten²⁾, so sehen wir, daß zu jener Zeit der Mikrobe No. 2 sehr energisch im Miste sich entwickelte und innerhalb der ersten 29 Tage seiner Vegetation in demselben 4,929 g CO₂ und 0,0229 g NH₃ ausgeschieden hat. Weswegen die Kultur No. 2 jetzt im Miste nicht gedeihen will, läßt sich schwer sagen; man kann annehmen, daß dieselbe, während einer Reihe von Jahren im Laboratorium auf künstlichen Nährmedien gezüchtet, ihre physiologischen Funktionen sehr gewechselt hat; doch ist das, nach einigen Daten zu schließen, nicht die einzige Ursache der beobachteten Erscheinung.

1) Sämtliche an den Versuchen der vorliegenden Arbeit beteiligten Kulturen sind in den früheren Arbeiten beschrieben worden.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. 1895. No. 3.

Aber wie dem auch sei, das Faktum, daß der Mikrobe No. 2 im Miste nicht gedeihen wollte, veranlaßte uns, das Bild seines Wachstums auf verschiedenen Nährmedien zu prüfen, um es mit dem bereits im Jahre 1893 beschriebenen Wachstumsbilde zu vergleichen. Es zeigte sich, daß der Mikrob No. 2 die nämlichen Wachstumsbilder auf Nährmedien liefert, wie früher, und nur die Gelatinekolonien ein ganz anderes Aussehen hatten wie früher; zu jener Zeit hatten sie die Form einer Himbeere, jetzt jedoch hatten die tiefen Kolonien sowohl wie die oberflächlichen eine runde Form mit regelmäßigen, glatten Konturen. Doch diese letztere Veränderung konnte als Folge einiger Differenzen in der Zusammensetzung des Nährmediums selbst in Erscheinung treten, obgleich letzteres auch nach ein und demselben Rezept 1893 sowohl als auch 1901 zubereitet wurde. Jedenfalls haben die beiden angeführten Versuche ihren Zweck vollständig verfehlt.

In den nachstehenden 2 Versuchen gerieten wir wiederum auf solch eine Kultur, welche im Miste nicht wachsen wollte, trotzdem sie früher in demselben energisches Wachstum entfaltete. Die Versuche wurden, wie immer, mit sterilisiertem Miste angestellt, wobei in dem Versuch 5 der Mist mit der Kultur No. 9 geimpft wurde, in dem Parallelversuche 6 aber außer dieser Kultur noch mit einer anaëroben Bouillonkultur eines stäbchenförmigen, ebenfalls aus Pferdemit isolierten Mikroben, dessen Beschreibung wir aus Raum-mangel unterlassen. Der Versuch wurde angestellt zu dem Zwecke, um aufzuklären, ob der obligate Anaërobe in Gegenwart einer aëroben Species und unter aëroben Verhältnissen im Miste gedeihen wird. Der Versuch wurde begonnen am 14. Sept. 1900. Das Resultat in Ziffern ist nachstehendes:

Tabelle III.

Datum der Gewichtsbestimmung	5. Versuch mit dem Mikroben No. 9	6. Versuch mit den Mikroben No. 9 u. 29
	Menge der ausgeschiedenen CO ₂ in Gramm.	
19. September	0,1544	0,1218
24. "	0,1154	0,0884
29. "	0,0940	0,0728
4. Oktober	0,1474	0,0610
4. "	0,2194	0,0528
Im ganzen in 25 Tagen	0,7306	0,3968
14. Oktober	0,3240	
19. "	0,3438	
24. "	1,2772	
29. "	1,4551	
Während des ganzen Versuchs NH ₃ ausgeschieden	0	0

Aus den Ziffern des Versuches 6 ist ersichtlich, daß es zu einer Entwicklung der Kulturen im Miste gar nicht gekommen ist; in

den ersten 5—10 Tagen gab es vielleicht noch ein schwaches Wachstum, aber danach sistierte auch dieses. Am 29. Sept. und 4. Okt. wurde abermals geimpft mit No. 9, aber wieder ohne Resultat; Aussaaten unter aëroben sowohl als auch anaëroben Verhältnissen nach dem Versuche legten die Sterilität des Mistes an den Tag, nur vereinzelt sah man Kolonien No. 9. In dem Versuche mit No. 9 allein war im Anfang offenbar auch ein schwaches Wachstum, später aber wurde auch dieses immer geringer; darauf wurde am 29. Sept. wieder mit No. 9 geimpft, die CO_2 -Ausscheidung stieg danach merklich, war aber dennoch lange nicht diejenige, welche man von No. 9 erwarten konnte, angesichts eines analogen, bereits im Jahre 1897 durchgeführten Versuches¹⁾. (Bei diesem Versuche wurden während der ersten 25 Tage 5,3080 g CO_2 ausgeschieden, während bei den vorliegenden Versuchen innerhalb derselben 25 Tage im ganzen ausgeschieden wurden bei dem 5. Versuch 0,7306 g, bei dem 6. Versuch 0,3968 g.) Darauf wurde am 9. Okt. mit einem anderen Mikroben, und zwar mit No. 1 geimpft, mit welchem wir ebenfalls bereits früher experimentiert hatten; nach dieser Impfung stieg die CO_2 -Ausscheidung noch mehr und am 24. und 29. Okt. wurde dieselbe in 5-tägigen Zeiträumen eine reichliche. Somit begann bloß bei Mitbeteiligung eines anderen Mikroben eine starke Ausscheidung von CO_2 , doch welcher Anteil davon auf die Arbeitsleistung von No. 9 und welcher auf diejenige von No. 1 kam, läßt sich natürlich schwer entscheiden. Aussaaten nach Schluß des Versuches erwiesen, daß in der Mistmasse viele Keime sowohl von No. 1, als auch von No. 9 vorhanden waren.

Demnach begegneten wir bei diesem Versuche derselben Erscheinung, wie bei dem vorangegangenen, eine Kultur, welche früher im Mist energisches Wachstum gezeigt hatte, will nach Verlauf von einigen Jahren in demselben nicht wachsen; noch sonderbarer ist der Umstand, daß die Kultur in ein und derselben Mistmasse bei einem Versuche gar nicht gedeiht, in dem Parallelversuche jedoch sich entwickelt, wenn auch schwach. Versuche, parallel mit der Abnahme der physiologischen Funktion des betreffenden Mikroben irgend welche anderen Aeüßerungen seiner veränderten Natur aufzudecken, blieben ziemlich erfolglos. Impfungen auf diverse Nährmedien erwiesen, daß der Mikrobe No. 9 sich wenig verändert hat während der Reihe von Jahren seiner künstlichen Kultivierung im Laboratorium; der ganze Unterschied kommt der Hauptsache nach darauf hinaus, daß mit der Zeit der in Rede stehende Mikrobe bedeutend später als früher Endosporen zu bilden begann. Beiläufig sei bemerkt, daß dieser Mikrobe in Rindfleischgelatine die Verflüssigung bei weitem langsamer ausführt, als in Kalbfleischgelatine; wir wollen auch in Erinnerung bringen, daß dieser Mikrob, wie das bereits von uns in den früheren Arbeiten angegeben worden ist, bald nach der ersten Isolierung aus Mist die Form

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1901. No. 11.

seiner Stäbchen während der Endosporenbildung in schroffer Weise gewechselt hat.

Zum Schluß darf auch hier nicht verhehlt werden, daß die angeführten zwei Versuche für ihren Zweck erfolglos waren; wir hofften, bei reichlicher CO_2 -Ausscheidung aus dem Miste, unter dem Einfluß der Lebenstätigkeit des aëroben Mikroben, den obligaten Anaëroben zum Wachstum im Miste zu veranlassen, aber leider wollte der aërobe Mikrobe zuerst im Miste nicht gedeihen.

Die nächstfolgenden Versuche der Tabelle IV wurden in folgender Weise angestellt: Bei beiden Versuchen wurden an Stelle des Harns je 100 ccm Wasser mit 0,09 g NaNO_3 zugesetzt und danach, nach gewöhnlicher Sterilisation, eine Mistportion mit *B. pyocyaneus* geimpft, die andere mit *B. denitrificans* einer von uns in den früheren Arbeiten sub No. 3 beschriebenen Kultur.

Beiläufig muß bemerkt werden, daß 20 Tage nach Beginn der Versuche (18. März) beiden Mistportionen, unter allen Kautelen vor bakterieller Verunreinigung, noch je 15 ccm Nitratlösung zugesetzt wurden mit einem Gehalt von je 0,09 g NaNO_3 . Der Zweck einer derartigen Anordnung der Versuche war folgender: Aus unseren früheren Versuchen¹⁾ ging hervor, daß der *B. pyocyaneus* im Miste ohne Harn seine Lebenstätigkeit nicht entfaltet, während er im Miste mit Harn sich energisch entwickelt; angesichts dessen beschlossen wir, bei dem Versuch 7 den Harn durch eine Nitratlösung zu ersetzen, in der Erwartung, daß letztere mehr oder weniger den Harn ersetzen wird und den *B. pyocyaneus* als energisches Oxydationsferment der organischen Substanz des Mistes dazu bringen wird, seine physiologische Funktion im Miste zu entfalten; andererseits war durch unsere früheren Versuche²⁾ festgestellt, daß der *B. pyocyaneus* ein sehr energischer Denitrifikator ist, deswegen war es bei unserem Versuche von Interesse, falls der *B. pyocyaneus* im Miste gedeihen sollte, auch das Schicksal dieses Nitrats im Miste zu verfolgen, wenigstens auf dem Wege qualitativer Reaktionen. Der Versuch mit *V. denitrificans* wurde ausschließlich zu dem Zwecke angestellt, um sein Verhältnis zum Nitrat im Miste zu verfolgen, denn auch dieser Mikrobe präsentiert sich, unseren früheren Untersuchungen gemäß, als energischer Denitrifikator und entwickelt sich, zum Unterschied von *B. pyocyaneus*, gut im Miste ohne Harn. Das numerische Resultat dieser Versuche ist folgendes:

(Siehe Tabelle IV p. 623.)

Bei dem Versuche mit *V. denitrificans* wurden innerhalb 30 Tagen des Versuches 2,8 g CO_2 ausgeschieden; ungefähr dieselbe Menge CO_2 hat dieser Mikrobe ausgeschieden auch in dem bereits 1896 angestellten Versuche, und zwar in dem mit Mist ohne Harn, als er in 30 Tagen 2,5 g ausschied. Somit ist die Anwesenheit des Nitrats im Miste auf die Energie des Oxydations-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. 1897. No. 23/24.

2) Zur Frage über die Zersetzung von salpetersauren Salzen durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1897. No. 19/20.)

Tabelle IV.

Datum der Gewichts- bestimmung	7. Versuch mit <i>B. pyocyaneus</i>	8. Versuch mit <i>V. denitrificans</i>
	Menge der ausgeschiedenen CO ₂ in Gramm.	
2. März	1,2864	0,1410
7. „	1,7198	1,0966
12. „	0,7966	0,7546
17. „	0,4728	0,3766
22. „	0,4200	0,2216
27. „	0,3186	0,2140
Im ganzen in 30 Tagen	5,0142	2,8044
Während des ganzen Ver- suchs NH ₃ ausgeschieden	0,00192	0

prozesses ohne Einfluß geblieben. Die Reaktion des Mistextraktes mit Diphenylamin und Schwefelsäure nach Schluß des Versuches erwies die Anwesenheit von Nitrat im Miste, aber die Reaktion äußerte sich nur in nicht besonders starker Blaufärbung, welche schnell verschwand, in einem anderen Reagenzröhrchen erzeugte die Reaktion eine kaum wahrnehmbare Blaufärbung; Nitratsäure gab es in dem Extrakt nicht; die Reaktion auf Lackmuspapier zeigte, daß der Mistextrakt schwach sauer war, das Nessler'sche Reaktiv erwies die Abwesenheit von NH₃, letzteres wurde auch während des Versuches, wie aus der Tabelle hervorgeht, nicht ausgeschieden. Wenn demnach auch eine Denitrifikation im Miste stattfand, so offenbar mit Zerstörung des Nitrats bis zu freiem Stickstoff. Es muß bemerkt werden, daß wir den nämlichen Denitrifikationshergang für *V. denitrificans* auch in dem Falle konstatiert haben, wo er in Fleischpeptonbouillon mit Nitrat sich entwickelt, obgleich hier bei Aëration der Bouillonkultur auch eine geringe Menge NH₃ zum Vorschein kommt. Wenden wir uns nun einer Beurteilung des Versuches mit *B. pyocyaneus* zu, so sehen wir, daß dieser Mikrobe im Miste ohne Harn ausgezeichnet vegetierte; in 30 Tagen hat er 5 g CO₂ ausgeschieden, d. h. etwa ebensoviel, wieviel von demselben in den früheren Versuchen aus dem Miste mit Harn (s. den Versuch der Tabelle I und den Versuch vom Jahre 1897) ausgeschieden worden ist, mit anderen Worten, man hätte den Schluß ziehen können, daß das Nitrat im Miste vollkommen den Harn ersetzt hat in dem Sinne, daß es nicht nur den *B. pyocyaneus* zur Entwicklung brachte im Miste ohne Harn, sondern ihn auch dazu veranlaßte, denselben Grad des Oxydationsprozesses zu entfalten, welchen er im Miste mit Harn aufwies. Doch verhält sich, wie wir weiter sehen werden, die Sache nicht so; in der Folge erwies es sich, daß der *B. pyocyaneus* im Miste ohne Harn und ohne Nitrat sich entwickeln kann. Anlangend die denitrifizierende Fähigkeit dieses Mikroben, so haben die qualitativen Reaktionen des wässrigen Mistauszuges nach Schluß des Versuches

folgendes ergeben. Die Reaktion des letzteren war eine neutrale oder kaum merkbar saure, Nitrat war im Auszuge nicht vorhanden, ein negatives Resultat wurde auch mit dem Nessler'schen Reaktiv erzielt, aber im Verlauf des Versuches wurde dennoch eine geringe Menge NH_3 ausgeschieden; wie aus den Ziffern des Versuches 7 zu ersehen ist, wurde 0,00192 g NH_3 ausgeschieden. Auf Grund dieser Daten können wir behaupten, daß das im Miste vorhandene Nitrat total zerstört wurde, wobei die Denitrifikation offenbar bis zu freiem N vor sich ging, und nur ein sehr geringer Teil des Nitrats, welcher in den oberen Schichten des Mistes sich befand, unter dem Einfluß der Aëration einem anderen Zerfallswege anheimfiel, und zwar mit Bildung von NH_3 . Daß ein derartiger Weg möglich ist, konnten wir bereits früher bei den Versuchen mit demselben Mikroben beobachten, aber in Fleischpeptonbouillon¹⁾. Die Annahme, daß das NH_3 in dem in Rede stehenden Versuche auf Kosten der festen Substanz des Mistes entstanden ist, ist nicht zulässig, dagegen sprechen alle unsere früheren Versuche, sowie auch ein direkter Versuch mit *B. pyocyaneus* im Miste ohne Harn, welchen wir weiter unten anführen werden. Beiläufig muß bemerkt werden, daß eine Prüfung eines Mistauszuges auf die Reaktion mit Diphenylamin und Schwefelsäure überhaupt sehr schlecht gelingt; wir haben absichtlich Mistportionen mit bedeutendem Nitratgehalt zubereitet, und nichtsdestoweniger konnte man nicht selten in den Reagenzröhrchen kaum eine geringe Blaufärbung wahrnehmen, welche sodann rapid verschwindet; mitunter verschwindet die Reaktion so schnell, daß es schwer fällt, zu entscheiden, ob sie vorhanden war oder nicht; das ist der Grund, weswegen man bezüglich des eben beschriebenen Versuches vorbehaltlich nicht besonders gewiß sein kann, daß das in der Mistportion vorhanden gewesene Nitrat in der Tat ganz und gar zerstört worden ist, obgleich die einige Male wiederholte Reaktion jedesmal auf Abwesenheit von Nitrat im Miste hinwies.

Nun wollen wir jenen Versuch anführen, welchen wir soeben erwähnt haben, und zwar den mit Mist ohne Harn, geimpft mit *B. pyocyaneus*. Die Mistportionen wurden, wie immer, aus 150 g Kot und 15 g Stroh zusammengesetzt, aber anstatt Harn 100 ccm Wasser zugesetzt. Der Versuch wurde begonnen am 15. Sept. 1901.

(Siehe Tabelle V p. 625.)

Somit ersieht man aus den angegebenen Ziffern, daß der *B. pyocyaneus* nicht nur im Miste ohne Harn gedieh, sondern sogar noch energischer in demselben seine Lebenstätigkeit zum Vorschein brachte, indem er in 30 Tagen des Versuchs 6,2 g CO_2 mehr ausschied, als in den früher erwähnten Versuchen mit Harn, wo in demselben Zeitraume *B. pyocyaneus* etwas über 5 g CO_2 ausgeschieden hat. Mit einem Wort, wir müssen jetzt unsere früheren Hypothesen fallen lassen, wenn wir jene Erscheinung zu erklären versuchen, daß einige Mikroben, die ausgezeichnet

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. II. 1897. No. 19/20.

Tabelle V.

9. Versuch	
Datum der Gewichtsbestimmung	Menge der ausgeschiedenen CO ₂ in Gramm.
20. September	0,5918
25. "	2,0128
30. "	1,4836
5. Oktober	0,9422
10. "	0,6920
15. "	0,5746
Im ganzen in 30 Tagen	6,2970
Während des ganzen Versuchs NH ₃ ausgeschieden	0

im Mist und Harn vegetieren, im Mist ohne Harn nicht gedeihen wollten. Offenbar liegt es hier nicht am Harn, sondern an irgend welchen anderen, derzeit nicht aufzudeckenden Umständen, bei deren Vorhandensein der betreffende Mikrobe im Mist nicht wachsen will. Wir haben bereits Beispiele angeführt für Mist mit Harn sowohl als auch ohne Harn, daß ein und derselbe Mikrobe einmal in der Mistmasse gut gedeiht, ein anderes Mal aber aus irgend welchen Gründen ganz und gar nicht wachsen will. Zur Erklärung dieser Erscheinung kann man sich offenbar auch nicht immer von dem oben angeführten anscheinend natürlichen Motiv leiten lassen, und zwar, daß bei langjähriger Züchtung von Mikroben auf Laboratoriumsnährmedien tiefe Veränderungen in ihren physiologischen Funktionen entstehen, welche eben die Ursache abgeben für den verschiedenen Effekt, welchen ein und derselbe Mikrobe hervorbringt. Man kann dieses nicht behaupten aus dem Grunde, weil in demselben Versuche mit *B. pyocyaneus* das zeitliche Verhältnis zwischen den Versuchen gerade das umgekehrte ist, und zwar im Jahre 1897, als die *B. pyocyaneus*-Kultur jünger war, wollte sie im Mist ohne Harn nicht wachsen, nach 4 Jahren jedoch erwies sich dieselbe, während der ganzen Zeit im Laboratorium auf Fleischpeptonagar gezüchtete Kultur, in Mist ohne Harn übertragen, unerwartet als energischer Oxydator organischer Substanz. Jedenfalls ist in der konstatierten Inkonzanz im Wachstum und in der Lebenstätigkeit der Mikroben in der Mistmasse eine gute Mahnung enthalten, vorsichtiger zu sein in der Deutung zukünftiger Versuche. Unter anderem will ich noch auf ein Faktum dieser Inkonzanz hinweisen, welche gleichzeitig mit dem beschriebenen Versuch konstatiert wurde. Die Sache ist die, daß wir zugleich mit der Zubereitung der Mistportion für diesen Versuch nebenbei aus demselben Material noch zwei kleinere Portionen anfertigten, und zwar von je 30 g Kot und je 30 g Stroh, wobei in einem Kolben dieser Mischung 10 ccm Harn und 10 ccm Wasser, in dem anderen nur 20 ccm Wasser zugesetzt wurden; beide Kolben wurden zusammen mit der großen, für den Versuch zubereiteten Portion sterilisiert. Nach der Sterilisation wurden die Mistportionen

in den Kolben mit *B. pyocyaneus* durch Einstich mit der Nadel geimpft; nach 10 Tagen erwies es sich, daß es in dem Kolben, wo Harn war, zu einer enormen Entwicklung von *B. pyocyaneus* gekommen war, während in dem ohne Harn die Mistmasse steril war; dementsgegen zeigte in der nämlichen für den großen Versuch zubereiteten Mistmasse der *B. pyocyaneus* energisches Wachstum. Wie läßt sich ein so sonderbarer Unterschied erklären? Zum Schluß wollen wir noch einige Worte über den Versuch 9 hinzufügen; nach Beendigung desselben war die Reaktion der Mistmasse eine neutrale und während des ganzen Versuches wurde aus dem Miste NH_3 nicht ausgeschieden. Demnach bestätigt dieser Versuch überdies die von uns in den früheren Arbeiten aufgestellte These, daß bei den Bedingungen, unter welche unsere Versuche gebracht werden, die NH_3 -Bildung in der Mistmasse nur auf Kosten des Harns geschehe; der feste Bestandteil der Mistmasse erzeugt kein NH_3 . Aussaaten nach Abschluß des Versuches zeigten, daß in der Mistmasse eine enorme Menge von Keimen des *B. pyocyaneus* vorhanden war; wir erinnern daran, daß in den früheren 2 Versuchen eine zweimonatliche Vegetation in der Mistmasse mit Harn stets mit völligem Aussterben dieses Mikroben endete.

In den Versuchen der Tabelle VI werden wir noch ein Beispiel dafür anführen, wie ein Mikrobe, welcher früher in der Mistmasse sich entwickelte, jetzt in derselben gar nicht wachsen wollte. Der Versuch No. 10 wurde mit Harn angestellt, No. 11 ohne Harn, beide wurden mit $\frac{1}{2}$ ccm frischer Bouillonkultur des Mikroben No. 1 geimpft. In beiden Versuchen wurde 10 Tage nach Beginn derselben (am 4. Mai) zum zweiten Male mit der Kultur No. 1 geimpft; schließlich wurde in dem Versuch mit Harn am 14. Mai mit *B. pyocyaneus* geimpft. Der Versuch wurde begonnen am 24. April 1901. Das Resultat der Versuche in Ziffern ist folgendes:

Tabelle VI.

Datum der Gewichtsbestimmung	10. Versuch mit Harn	11. Versuch ohne Harn
	Menge der ausgeschiedenen CO_2 in Gramm.	
29. April	0,0872	0,0780
4. Mai	0,0832	0,0690
9. "	0,1184	0,0600
14. "	0,1192	0,0692
Im ganzen in 20 Tagen	0,4080	0,2762
19. Mai	2,0314	
29. "	1,6374	

Sieht man die Ziffern des Versuches ohne Harn durch, so überzeugt man sich unschwer, daß der Mikrobe 1, trotz wiederholter Impfung, im Miste ganz und gar nicht wachsen wollte; innerhalb 20 Tagen des Versuches wurde 0,2762 g CO_2 ausgeschieden, während in einem im Jahre 1897 angestellten analogen

Versuche innerhalb derselben 20 Tage der Mikrobe 1 ein CO_2 -Quantum von 4,4126 g ausgeschieden hat. Eine bakteriologische Analyse nach dem Versuche erwies, daß der Mikrobe 1 in der Tat im Miste nicht zur Entwicklung kam.

Uebrigens haben wir 15 Tage nach Beginn des Versuches, als wir aus den Ziffern der Kohlensäureausscheidung ersahen, daß der Mikrobe 1 sich im Miste nicht entwickelt, eine neue Mistportion in einem kleinen Kolben, ebenfalls ohne Harn, zubereitet und dieselbe durch Einstich mit derselben Kultur 1 geimpft, doch auch in dieser Portion entwickelte sich die Kultur nicht. Bei dem Versuche mit Harn entwickelte sich offenbar der Mikrobe 1, doch äußerst schwach; eine nochmalige Impfung mit No. 1 steigerte etwas den Oxydationsprozeß, doch wiederum in sehr geringem Maße. Mit einem Wort, innerhalb der ersten 20 Tage wurden insgesamt 0,4080 g CO_2 ausgeschieden, während bei einem analogen, bereits im Jahre 1894 angestellten Versuche der Mikrobe 1 eine CO_2 -Menge von 2,903 g ausgeschieden hat. Ein ganz anderer Effekt wurde erzielt, als der Mist mit *B. pyocyaneus* geimpft wurde — bereits nach 5 Tagen wurden 2,0 g CO_2 ausgeschieden und innerhalb der folgenden 5 Tage noch mehr — 2,6 g. Aussaaten nach Schluß des Versuches erwiesen die Anwesenheit einer enormen Menge von Keimen des *B. pyocyaneus* in der Mistmasse, aber auch Kolonien No. 1 gab es auch recht viel, wenn auch unermäßig weniger als Kolonien des *B. pyocyaneus*.

Zum Schluß der Abhandlung wollen wir noch die zwei nachstehenden Versuche anführen. Diese Versuche wurden angestellt zwecks einer Klärung des Einflusses der Sterilisation der Mistmasse auf den successiven Verlauf ihrer Verrottung, zweitens wurden die Versuche mit natürlicher Zusammensetzung der Bakterienflora durchgeführt, um eine Vorstellung von den aus dem Miste zur Ausscheidung kommenden Mengen von CO_2 und NH_3 zu haben, im Vergleich mit denjenigen CO_2 - und NH_3 -Mengen, welche gewöhnlich aus dem Miste bei unseren Versuchen mit Reinkulturen ausgeschieden werden. Dementsprechend wurde die Mistportion für diese beiden letzten Versuche in der üblichen Weise zusammengesetzt, d. h. aus 150,0 g Pferdekot, 15,0 g Stroh, 50,0 ccm Pferdeharn und 50,0 ccm Wasser, wobei in dem Versuche 12 die Mistmischung nicht sterilisiert wurde, während in dem Versuche 13 der Mist zuvor sterilisiert wurde, wie gewöhnlich — bei 2 Atmosphären durch $\frac{3}{4}$ Stunden; danach wurde letzterer mit folgendem Material geimpft: einem Stückchen Kot, einigen Tropfen eines wässerigen Kotalauszuges, einigen Tropfen eines wässerigen Strohauszuges und einigen Tropfen Harn, alles dieses natürlich aus dem nämlichen Materiale, aus welchem auch die Masse für den Versuch 12 zusammengesetzt war. Durch eine derartige Impfung versuchten wir es, in beiden Versuchsportionen des Mistes eine gleiche Bakterienflora zu erzielen. Das Resultat war, wie folgt — der Versuch wurde begonnen am 9. November 1899:

Tabelle VII.

Datum der Gewichts- bestimmung	12. Versuch mit nicht sterilisiertem Harn	13. Versuch mit sterilisiertem Harn
	Menge der ausgeschiedenen CO ₂ in Gramm.	
14. November	2,4616	1,2408
19. "	3,0330	1,4430
24. "	3,0306	2,0724
29. "	1,5656	1,4322
4. Dezember	1,5890	1,0468
9. "	1,9460	1,1248
Insgesamt in 30 Tagen	13,6258	8,3600
14. Dezember	1,3000	1,8918
19. "	1,2448	1,5098
24. "	1,0512	1,0992
29. "	0,7052	1,4170
3. Januar 1900	0,5498	0,8008
8. " 1900	0,5208	0,8462
Insgesamt in 30 Tagen	5,3718	7,5648
13. Januar 1900	0,8124	1,0606
18. " 1900	0,4416	1,0676
23. " 1900	0,8390	1,7152
28. " 1900	0,5966	0,7158
2. Februar 1900	0,5648	0,5124
7. " 1900	0,3866	0,3914
Insgesamt in 30 Tagen	3,6410	4,9230
In sämtlichen 90 Tagen des Versuchs	22,6388	20,8478
Während des ganzen Ver- suchs NH ₃ ausgeschieden	0,07507	0,02117

Wie aus den Ziffern zu ersehen ist, verlief der Oxydationsprozeß in beiden Versuchen fast mit gleicher Intensität; die Differenz zwischen den Gesamtmengen von CO₂ ist nicht groß, im nicht sterilisierten Miste wurde ungefähr um 10 Proz. mehr CO₂ ausgeschieden als im sterilisierten. Demnach muß man auf Grund dieses Versuches annehmen, daß die Sterilisation den konsekutiven Gang des Oxydationsprozesses in der Mistmasse wenig beeinflußt. Etwas ausgesprochener war der Einfluß der Sterilisation auf die Konsequenz in dem Verlaufe der CO₂-Ausscheidung; im nicht sterilisierten Miste sank die CO₂-Ausscheidung im zweiten Monate gegenüber dem ersten auffallend herunter, im Versuche mit sterilisiertem Mist verlief im Gegenteil die CO₂-Ausscheidung ziemlich gleichmäßig, beinahe während der ganzen Dauer des Versuches. Vermutlich liegt der Grund davon in der wenigstens numerischen Ungleichheit der Bakterienflora ganz am Anfang der zu vergleichenden Versuche; im nicht sterilisierten Miste ist die ganze Masse desselben bereits ganz am Anfang des Versuches mit einer enormen Menge von Bakterienkeimen infiziert, und deswegen haben diese die Möglichkeit, den höchsten Effekt auf einmal zu entfalten, während im sterilisierten und geimpften Miste eine gewisse Spanne Zeit vergehen muß, damit die Impfung denselben Effekt erzielte,

welcher ganz am Anfang des Versuches beim nicht sterilisierten Mist vorhanden war; deswegen eben verlief im sterilisierten Mist, im Einklang mit der gewissen Konsequenz in der Entwicklung der Impfung, auch der Oxydationsprozeß mit größerer Gleichmäßigkeit.

Uebrigens müssen wir zugeben, daß in unserer Arbeit „Gips als ammoniakbindende Substanz bei der Verrottung des Stallmistes“ (Centralbl. f. Bakt. 1903. No. 12/13) ein dem in Rede stehenden analoger Versuch enthalten ist, eben mit sterilisiertem und mit wässerigem Mistauszug geimpftem Mist, bei welchem die besprochene Konsequenz nicht vorhanden war, denn bei diesem Versuche war die Menge der ausgeschiedenen CO_2 im zweiten Monat 2mal geringer als im ersten. Wenn wir nun uns daran machen, die beiden angeführten Versuche mit sämtlichen früheren, mit Reinkulturen angestellten zu vergleichen, so werden wir, wie auch zu erwarten war, einsehen, daß in Mistportionen mit natürlicher Zusammensetzung der Bakterienflora bedeutend mehr CO_2 ausgeschieden wird, als in einem Miste, in welchem irgend ein einziger Mikrobe vegetiert hat; doch ist diese Differenz bei einem Vergleich mit Mikroben von höchster Energie nicht besonders groß. Nimmt man z. B. *B. pyocyaneus* oder *B. indicus*, so wird es sich erweisen, daß innerhalb ein und derselben Versuchszeit bei natürlicher Bakterienflora der Oxydationsprozeß nur ungefähr doppelt so energisch fortschreitet, als in dem Falle, wo in der Mistmasse eine von den genannten Bakterienspecies sich befindet. Uebrigens, nach unseren oben erwähnten Versuchen mit Gips zu schließen, kann diese Differenz sich auch als größer erweisen und das Verhältnis 1:3 erreichen. Anlangend den Vergleich der Versuche hinsichtlich des Ausscheidungsganges von CO_2 , läßt sich vermerken, daß bei den Versuchen mit Reinkulturen die Lebensfähigkeit der einen oder einiger in der Mistmasse enthaltenen Bakterienarten früher ein Ende nimmt, als im Miste mit natürlicher Bakterienflora; bei letzterer dauert 3 Monate nach Beginn des Versuches das Leben noch fort, von CO_2 werden noch Decigramme ausgeschieden, während bei Versuchen mit Reinkulturen man bereits nach 2 Monaten annehmen kann, daß das Bakterienleben im Miste aufhört; dazu kommt noch, daß wenn bei Versuchen mit Reinkulturen die CO_2 -Ausscheidung abzunehmen beginnt, diese Abnahme gleichmäßiger vor sich geht, als bei Versuchen mit natürlicher Bakterienflora.

Gehen wir nun daran, die letzten Versuche einer Wertschätzung vom Gesichtspunkte der NH_3 -Ausscheidung aus dem Miste zu unterziehen, so müssen wir zwischen denselben einen schroffen Unterschied konstatieren: Bei dem Versuche mit nicht sterilisiertem Mist wurde über 3mal soviel NH_3 ausgeschieden als im sterilisierten. Freilich unterliegt es keinem Zweifel, daß ein bedeutender Anteil an dieser Differenz auf Rechnung der Sterilisation des Mistes zu stellen ist, und zwar auf Rechnung der Zersetzung des in demselben enthaltenen Harns, wovon wir bereits an den Versuchen der Tabelle I uns zu überzeugen Gelegenheit hatten, doch kann nicht diese ganze Differenz auf Rechnung der

Sterilisation gestellt werden, dieselbe ist zu groß dazu; es läßt sich nicht annehmen, daß für den Versuch mit sterilisiertem Mist 0,02117 g ausgeschiedenen NH_3 die Grenznorm war, d. h. daß in demselben bereits kein Harn mehr zu weiterer Bildung von NH_3 vorhanden war. Wir behaupten das aus dem Grunde, weil bei unseren früheren Versuchen, ebenfalls mit sterilisiertem Mist, mit der gleichen Harnmenge und bei Vegetation nur einer Kultur im Mist größere Ziffern für NH_3 erzielt wurden. So z. B. hat *B. pyocyaneus* 24 mg und 26 mg, der Mikrobe 2 sogar 36 mg ausgeschieden, wobei hinzuzufügen ist, daß diese NH_3 -Mengen in 2 Monaten zur Ausscheidung gekommen sind, während wir den Vergleich mit einem 3-monatigen Versuch durchführen, mit anderen Worten, wenn die obengenannten Versuche nicht 2, sondern 3 Monate gedauert hätten, so hätten wir für NH_3 noch größere Ziffern¹⁾ erhalten können. Mit einem Wort, die bedeutend geringere Menge des vom sterilisierten Mist ausgeschiedenen NH_3 ist nicht einzig und allein durch die Sterilisation bedingt, sondern auch durch einen anderen Faktor, und zweifellos ist dieser Faktor ein biologischer, eines von beiden — entweder verlief die ammoniakalische Gärung bei den zu vergleichenden Versuchen nicht mit gleicher Kraft oder es bestand ein Mißverhältnis in den weiteren Prozessen, in der Nitrifikation und Denitrifikation, wenn diese Prozesse in der Mistmasse nur stattfanden (nach Schluß der Versuche war in den Mistauszügen die Reaktion mit Diphenylamin und Schwefelsäure nicht vorhanden). Wie dem auch sei, die Differenz in den Versuchen kommt aber, abgesehen von der Sterilisation, auf die Ungleichheit der Bakterienflora in den zu vergleichenden Versuchen heraus. Dieses Exempel beweist nochmals, wie schwer oder, richtiger gesagt, wie unmöglich es ist, mehr oder minder exakte Schlüsse auf Grund von Versuchen mit natürlicher Bakterienflora zu ziehen, welche in derartigen Fällen für uns als total unbekannte, sehr komplizierte und leicht veränderliche Größe sich repräsentiert.

Zum Schluß sei gesagt, daß der Charakter der NH_3 -Ausscheidung aus den Mistmassen des letzten Versuches der nämliche geblieben ist, wie bei den Versuchen mit Reinkulturen. Zur Zeit der höchsten CO_2 -Ausscheidung wird NH_3 fast nicht ausgeschieden, energische NH_3 -Ausscheidung beginnt erst von dem Zeitpunkt, wo die CO_2 -Ausscheidung aus dem Mist bedeutend abzunehmen beginnt. Die NH_3 -Ausscheidung in den angeführten Versuchen, soweit man aus der Schnelligkeit der Sättigung der sterilisierten H_2SO_4 in dem ersten U-förmigen Röhrchen urteilen kann, verlief folgendermaßen: Bei dem Versuch 13 hat das erste U-förmige Röhrchen mit 6 ccm titrierter H_2SO_4 die gelbe Farbe in rosa umgeändert am 24. Januar, d. h. erst 2 $\frac{1}{2}$ Monate nach

1) Unter anderem haben wir in der vierten in dieser Zeitschrift 1901 abgedruckten Arbeit über die Bakterienflora des Pferdemistes einen Versuch (Tabelle III) angeführt, bei welchem bei denselben 50 ccm Harn und bei gewöhnlicher Sterilisation noch mehr NH_3 ausgeschieden wurde, und zwar 42 mg.

Beginn des Versuches, aber das zweite und letzte Mal waren 6 ccm Säure bereits nach 12 Tagen gesättigt (am 15. Februar). Es ist sehr wahrscheinlich, daß neben anderen Ursachen, welche einen Einfluß auf die schwache Ausscheidung von NH_3 bei diesem Versuche ausgeübt haben, auch der Umstand mitgewirkt hat, daß die während dieses ganzen Versuches ziemlich gleichmäßig verteilte CO_2 -Ausscheidung die ganze Zeit eine ziemlich reichliche war, was eben einer mehr oder minder merklichen Ausscheidung von HN_3 aus dem Miste im Wege stand, aber kaum waren seit dem 20. Januar die CO_2 -Mengen auf Decigramme herabgesunken, als auch rapide Ausscheidung von NH_3 aus dem Miste begann. Mit anderen Worten, der Versuch wurde eben zu der Zeit abgebrochen, als gerade eine rapide NH_3 -Ausscheidung begonnen hatte, und es ist sehr wahrscheinlich, daß wenn die Versuche der Tabelle VII nicht 3, sondern 4 oder 5 Monate gedauert hätten, die große Differenz in den ausgeschiedenen Mengen von NH_3 bei den zu vergleichenden Versuchen sich bedeutend verringert hätte. Bei dem Versuch 12 hat das erste U-förmige Röhrchen seine Farbe nach 36 Tagen (am 14. Dezember) gewechselt, zum zweiten Male geschah dieses bereits nach 10 Tagen (am 24. Dezember), zum dritten Male nach 13 Tagen, zum vierten Male nach 11 Tagen, zum fünften nach 7 Tagen, zum sechsten nach 7 Tagen und endlich zum siebenten Male nach 6 Tagen. Bei diesem Versuche war, wie aus den Ziffern hervorgeht, die Verteilung der ausgeschiedenen CO_2 -Mengen günstiger für das Freiwerden von Stickstoff aus der Mistmasse, denn bereits seit dem 24. Dezember, d. h. etwa zur Hälfte des Versuches, begann die CO_2 -Ausscheidung dermaßen abzunehmen, daß nur noch Decigramme ausgeschieden wurden.

Nachdruck verboten.

Das bakteriologische Laboratorium der schweizerischen landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsanstalten auf dem Liebefeld bei Bern.

Von Dr. Ed. v. Freudenreich, Vorstand des Laboratoriums.

Mit 9 Figuren.

Das im Jahre 1899 ins Leben gerufene bakteriologische Laboratorium der schweizerischen landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsanstalten, welches zuerst provisorisch, dank dem Entgegenkommen des Kantonschemikers Herrn Prof. Dr. Schaffer, in dessen Räumen untergebracht worden war, konnte im Jahre 1901 in das neu errichtete Gebäude der schweizerischen landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsanstalten auf dem Liebefeld bei Bern verlegt werden. In diesem Gebäude, dessen Gesamtbild Fig. 1 wiedergibt, nimmt das bakteriologische Laboratorium die erste Etage des linken Flügels ein. Wie aus dem beigegebenen

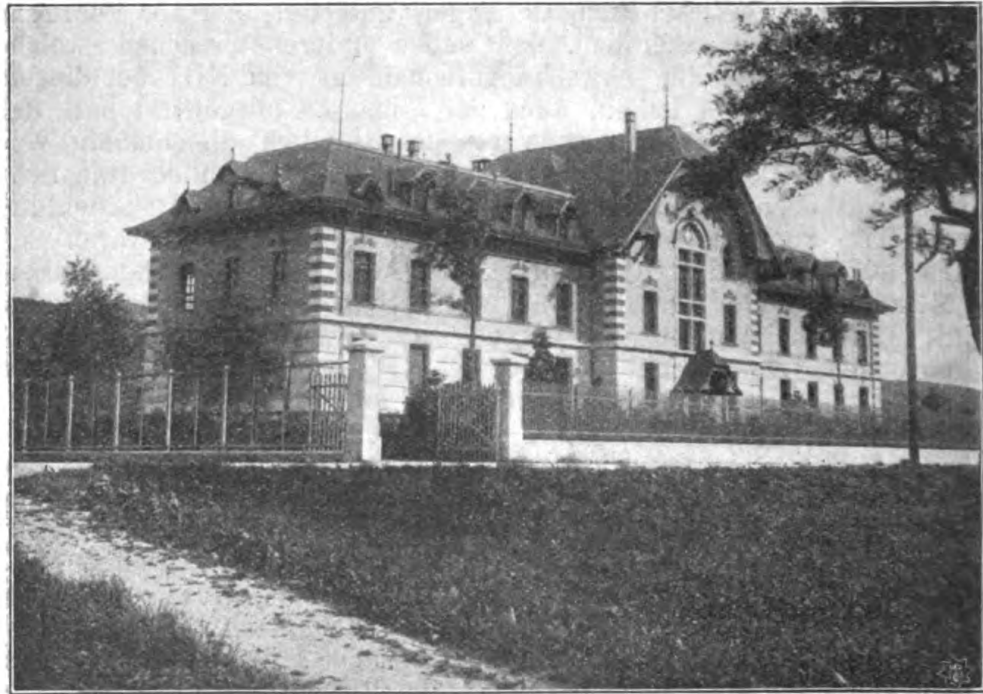


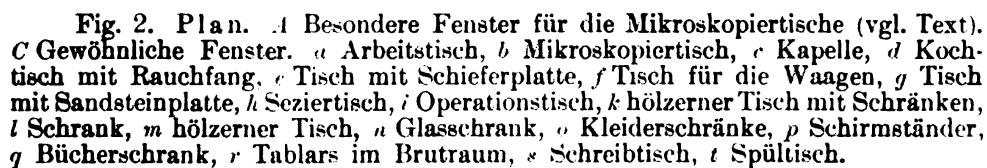
Fig. 1.

Plane (Fig. 2) ersichtlich ist, stehen dem Laboratorium 8 Räume zur Verfügung, deren nähere Beschreibung hier folgt:

Durch die Eingangstür und den Korridor gelangt man zum Hauptlaboratorium (Plan links, vergl. Fig. 3). Dieser Raum hat 6 Fenster und hat folgende Maße: 13,30 m Länge, 7,90 m Breite und 4,30 m Höhe.

Boden. Derselbe besteht aus roten Cremonerplatten, die 15 cm lang, 7,5 cm breit und in Parkettform gelegt sind, was ihm ein recht elegantes Aussehen verleiht. Diese Platten sind nicht porös und widerstehen allen möglichen Eingriffen von Säuren und Alkalien; Flecken, wie z. B. Anilinfarbenflecken, dringen nicht ein und lassen sich mit konzentrierten Säuren leicht wegwaschen. Eine Abnutzung durch Stehen, wie das auf den hölzernen Fußböden bemerkbar ist, findet nicht statt und da die Masse durch und durch rot ist, erfährt die Farbe keine Veränderung. Bei Vorhandensein einer Zentralheizung sind sie auch im Winter gleichmäßig warm. Sie sind mit einem nassen Wischer sehr leicht zu reinigen und verlangen daher viel weniger Arbeit als Böden, welche gewischt oder geölt werden müssen. Es wurden daher alle Räume des Laboratoriums, mit Ausnahme des Büreaus und des Operationszimmers, mit solchen Böden ausgestattet.

Fenster. Die vor den Mikroskopiertischen befindlichen Fenster haben eine besondere Konstruktion erhalten. Damit das Licht ungehindert zu den Mikroskopen gelangen kann, be-



steht der untere Teil aus einem 1,26 m breiten und 84 cm hohen Rahmen mit einer einzigen Scheibe (siehe Fig. 4). Dieser Teil des Fensters wird gewöhnlich nicht geöffnet, so daß alle Gegenstände auf dem Tische verbleiben können. Der obere Teil des Fensters hat zwei Flügel, deren Verschuß leicht erreichbar ist und ist außerdem oben mit zwei kleinen Flügeln versehen, die man

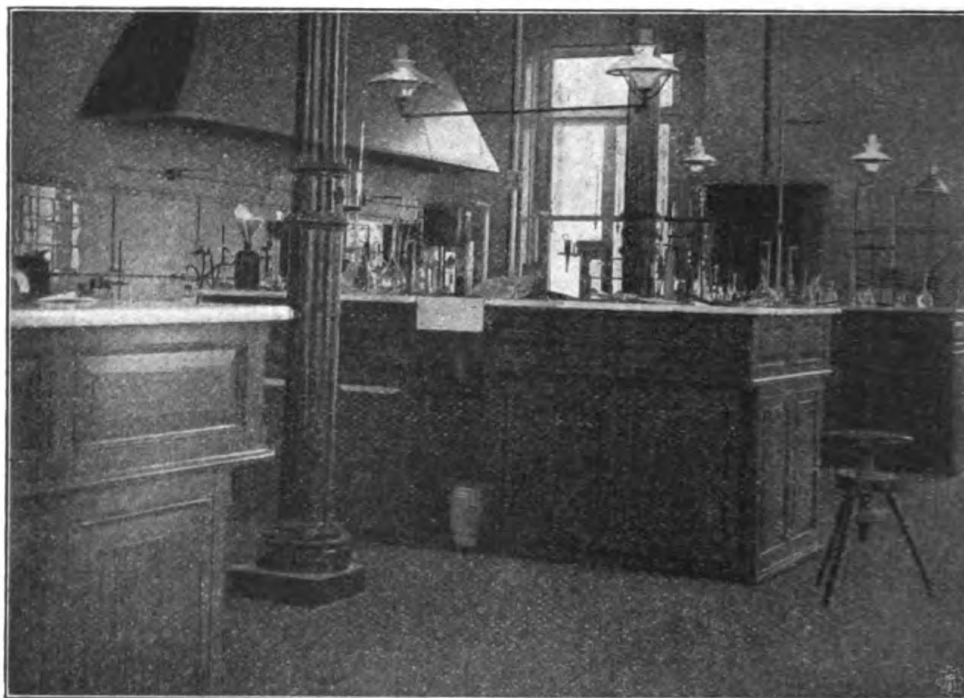


Fig. 3.

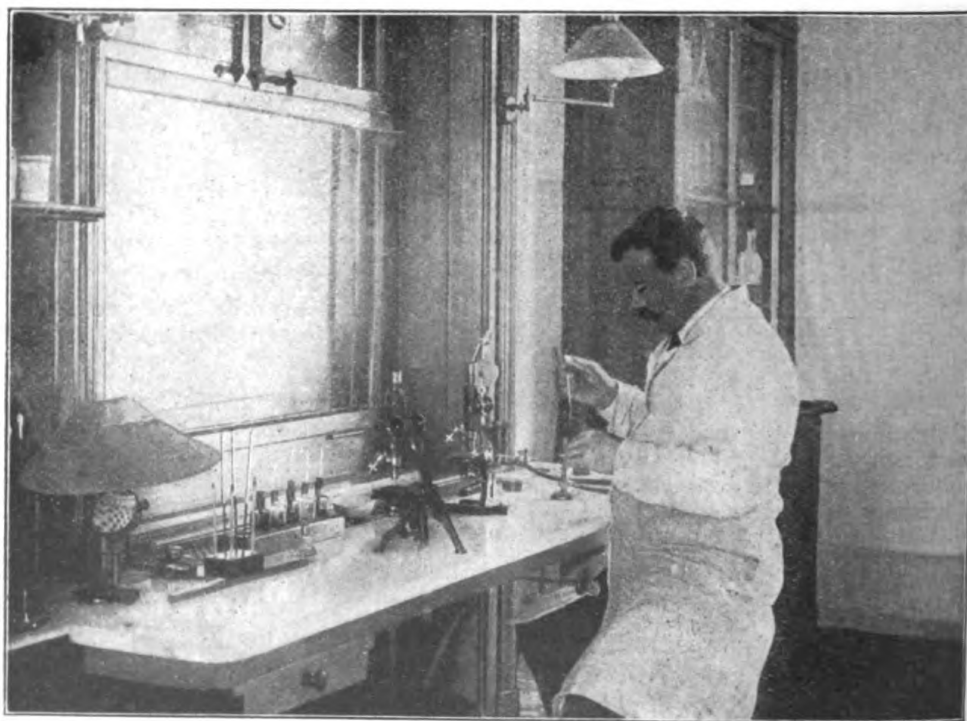


Fig. 4.

vermittelt einer Schnur öffnen und schließen kann. Die übrigen Fenster haben einen unteren, aus zwei Flügeln bestehenden Teil und einen oberen Teil, der sich horizontal aufklappen läßt. Die Ventilation der Räumlichkeiten ist daher leicht zu bewerkstelligen. Die abnehmbaren Winterfenster haben natürlich dieselbe Konstruktion. Die dem direkten Sonnenlichte ausgesetzten Mikroskopierfenster sind mit Storen versehen, die jedoch nur den unteren Rahmen decken. Hölzerne Jalousien können überdies von innen aus heruntergelassen werden.

Mikroskopierteische (Fig. 4). Wie bereits erwähnt, sind die Mikroskopierteische vor den Fenstern angebracht. Sie sind aus emaillierter Lava hergestellt, 2,30 m lang, 45 cm breit und befinden sich in einer Höhe von 75 cm über dem Fußboden. Die Tischplatten ruhen auf einem Metallrahmen und werden durch Wandarme getragen, so daß beim Gehen im Laboratorium keine Erschütterung entsteht. Zwischen der Tischplatte und dem Fensterahmen ist noch ein 16 cm breiter Zwischenraum, der mit einer durchlöcherten Eisenblechplatte bedeckt ist und durch welche die Wärme der direkt vor den Fenstern angebrachten Heizkörper aufsteigen kann. Der Tisch hat somit im ganzen eine Breite von 61 cm. An der Längswand sind die drei Mikroskopierteische durch 38 cm breite Zwischenstücke aus glasierten Tonplatten, in deren Mitte viereckige Bassins aus emaillierter Lava mit Wasserhahn sich befinden, miteinander verbunden. Die zwei übrigen Mikroskopierteische, je einer an jeder Seitenwand, haben ein solches Bassin an dem einen Ende. Unter jedem Tische befinden sich an jedem Ende kleine Schubladen zum Aufbewahren der Deckgläser, Pinzetten u. s. w. An einem Mikroskopierteische können bequem zwei Personen arbeiten.

Arbeitstische (Fig. 3). Im Hauptlaboratorium sind drei Arbeitstische aufgestellt. Die Tischplatte besteht aus weißer emaillierter Lava und hat eine Länge von 2,50 m und eine Breite von 1,10 m. Ecken und Ränder sind abgerundet. In der Mitte einer jeden Längsseite befindet sich ein Bassin von blauer emaillierter Lava mit dazu gehöriger Wasserleitung und Hahn. Die Gasleitung ist in der Mitte der Tische angebracht, von welcher nach beiden Seiten des Tisches horizontale Röhren sich abzweigen, an deren Enden Auerbrenner angebracht sind. An jedem Ende des Tisches befinden sich noch Doppelgashähne und in der Mitte zwei solche. Der untere Teil der Tische ist getrennt; jede Seite enthält einen Schrank und darüberstehende Schubladen. Zwischen diesen Schränken sind Ablauf-, Gas- und Wasserleitungen angebracht. Zwei Personen können an jedem Tische sehr bequem arbeiten.

Kochtisch (Fig. 5). Derselbe ist für Destillationen, Kochen u. s. w. bestimmt und ist mit einem Rauchfang überdeckt, welcher die Dämpfe aufnimmt. Das Aufsaugen derselben geschieht durch eine von Prof. Tavel in seinem Institute für Infektionskrankheiten in Bern eingeführte Vorrichtung, nämlich durch ein Abzugskamin, das in der Mitte des Tisches an der hinteren Wand angebracht ist und unter dem höchsten Teil des Rauchfanges eine rechteckige, mit einem

Jalousieventil verschließbare Oeffnung nach dem Lumen des Rauchfanges hat. Im Kamin befindet sich ein Eisenrohr, das bis über das Jalousieventil hinaufreicht, an dessen unterem trichterförmig erweiterten Ende ein großer Bunsenbrenner den nötigen Zug erzeugt. Für gewöhnlich ist es indessen gar nicht nötig, den Brenner anzuzünden, da die Dämpfe von selber hinaufsteigen. Der Kochtisch ist an der Längswand des Laboratoriums angebracht und ist über 4 m lang. Er ist mit weißen Tonplatten überdeckt und

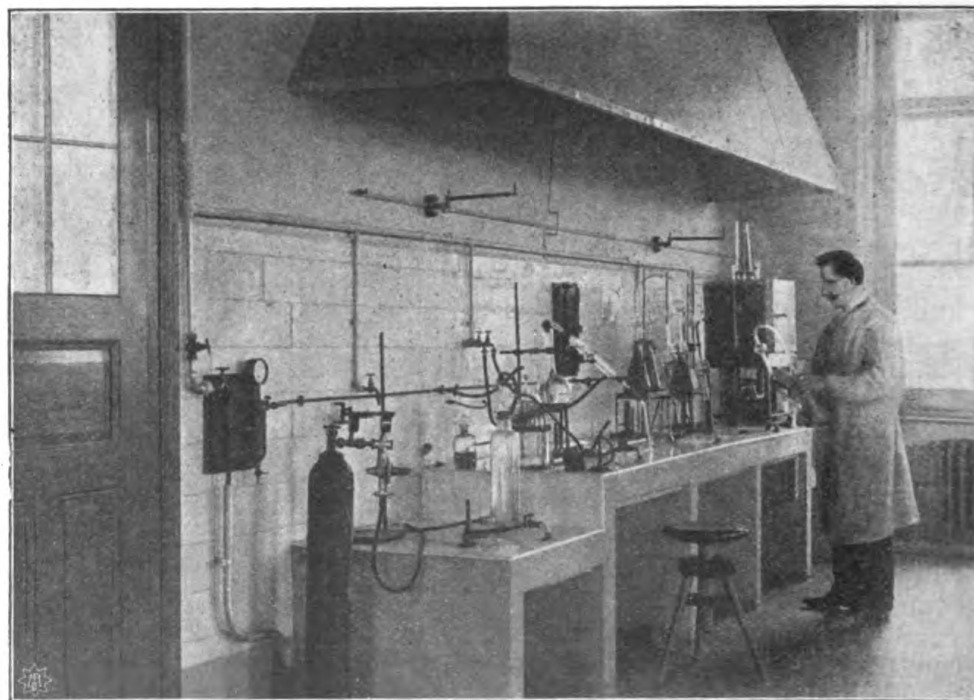


Fig. 5.

hat zwei niedrigere Seitenteile zum Aufstellen von Autoklaven, Thermostaten u. s. w. An der hinteren, ebenfalls mit Tonplatten überdeckten Wand ist eine Vakuumleitung angebracht, die mit der an der Seite des Tisches befindlichen Wasservakuumpumpe verbunden ist. Die Vakuumleitung hat 3 Hähne, so daß gleichzeitig mehrere Apparate luftleer gemacht werden können.

Im Laboratorium befinden sich außerdem ein großer hölzerner Tisch, ein Spülstein aus glasiertem Ton mit Tropfbrett und Reagenzglasstropfgestell, ein kleiner Schreibtisch für die Assistenten, ein Glasschrank für die Chemikalien und Etagèren zwischen den Mikroskopiertischen. Außerdem sind in demselben ein größerer und drei kleinere Brutapparate für verschiedene Temperaturen angebracht.

Waagenzimmer. Von dem Hauptlaboratorium gelangt man durch eine kleine Türe (rechts oben) in das Waagenzimmer. In

diesem sind auf zwei Schiefertischen die nötigen analytischen und gewöhnlichen Waagen angebracht.

Laboratorium des Vorstandes. Auf der anderen Seite des Waagenzimmers befindet sich das Laboratorium des Vorstandes. Dasselbe enthält einen Mikroskopiertisch, einen Arbeitstisch, einen Kochtisch und einen hölzernen Tisch gleicher Konstruktion wie im Hauptlaboratorium, nur etwas kleiner. In einem verschließbaren Glasschrank werden hier die Platingeräte, Mikroskope u. s. w. aufbewahrt, soweit sie nicht in Gebrauch sind.

Bureau. Neben diesem kleinen Laboratorium befindet sich das Bureau des Vorstandes mit einem Schreibtisch und einem Stehpulte. In demselben befindet sich auch die Bibliothek.

Bruträume. Zwischen dem Waagenzimmer und dem Korridor sind zwei Bruträume angebracht, ein unterer und ein oberer, zu dem man vermittelt einer kleinen Treppe gelangt. Diese Räume sind 2,40 m breit und 2,15 m tief, gut isoliert, und mit 2 Türen versehen. Ringsherum sind breite Tablars angebracht. Die Heizung wird mittels einer Eisenserpentine bewerkstelligt. Die Mündung derselben befindet sich in einer Nische im Korridor; die Flamme des in dieselbe gerichteten Brenners wird durch einen im Brutraum befindlichen Rouxschen metallischen Thermoregulator reguliert. Der untere Raum, der für Temperaturen von 20° verwendet wird, kann durch eine an der Decke und an den Wandungen laufende Wasserserpentine abgekühlt werden, was im Sommer häufig nötig wird. Die Ventilation wird durch Oeffnungen, die nach dem Waagenzimmer und dem Korridor gehen, bewerkstelligt. Für die Beleuchtung dieser Räume verwendet man einen Auerbrenner mit Kleinsteller, der in einer an der Wand angebrachten Nische sich befindet. Eine fest eingelassene Glasscheibe trennt den Brenner vom Brutraume, über welche überdies eine in beweglichen Rahmen eingefügte rote Scheibe sich herüberklappen läßt, damit, falls einmal vergessen werden sollte, den Auerbrenner klein zu stellen, keine für Bakterien schädliche Beleuchtung des Raumes stattfinde. Der obere Raum wird für Temperaturen von ca. 30° verwendet.

Chemisches Laboratorium (Fig. 6). Gegenüber dem Brutraum, auf der anderen Seite des Korridors, befindet sich ein speziell für chemische Arbeiten eingerichtetes Zimmer. In demselben sind 2 Kapellen für Stickstoffverbrennungen u. s. w. angebracht, ferner eine kleine Zentrifuge mit Wasserbetrieb und verschiedene chemische Apparate. Die Tische sind mit Schieferplatten bedeckt.

Spülzimmer (Fig. 7). Neben dem chemischen Laboratorium befindet sich das Spülzimmer, in welchem auch die Nährböden bereitet werden. In demselben ist einer der beschriebenen Kochtische angebracht, auf welchem die Autoklaven und übrigen Sterilisierapparate aufgestellt sind. Ein langer, hölzerner Tisch mit Schränken, ein Spülstein mit Tropfbrett und Reagenzglasergestell und ein Heißwasserapparat sind ebenfalls vorhanden.

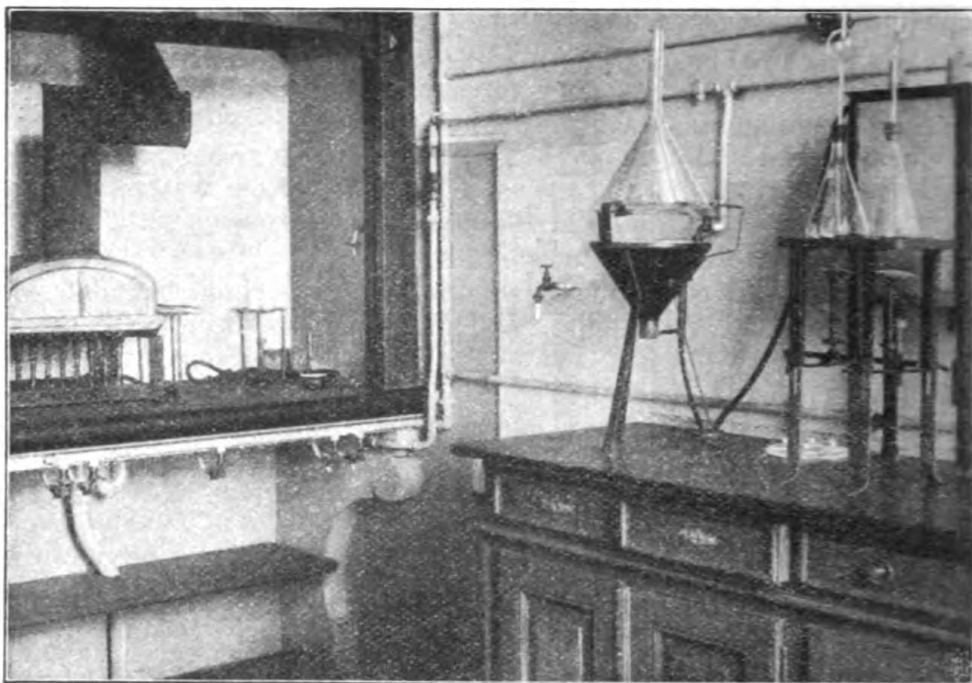


Fig. 6.

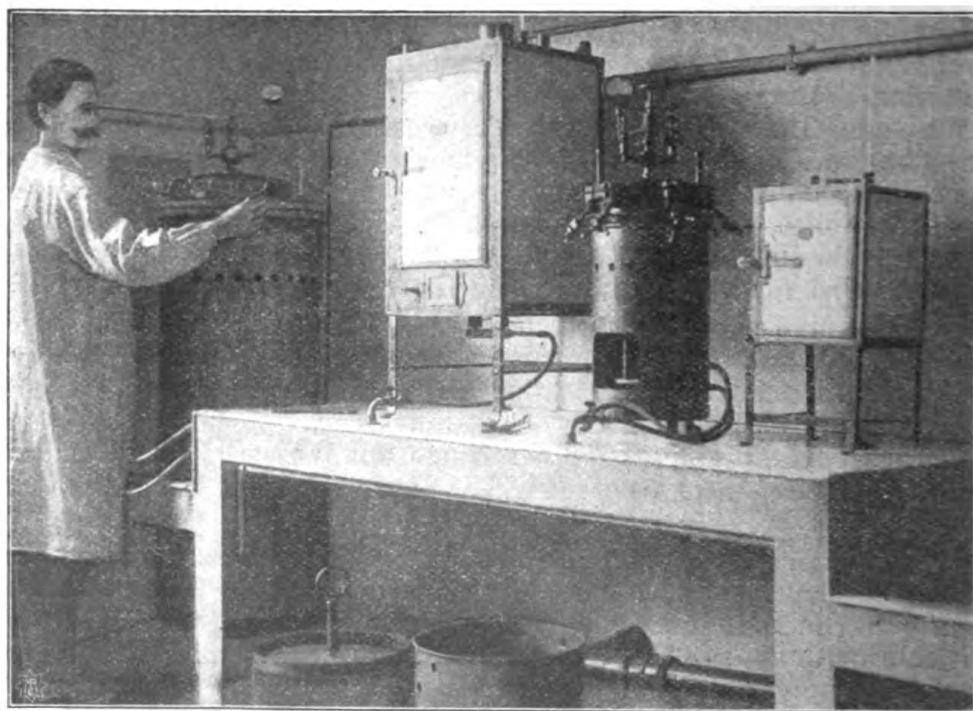


Fig. 7.

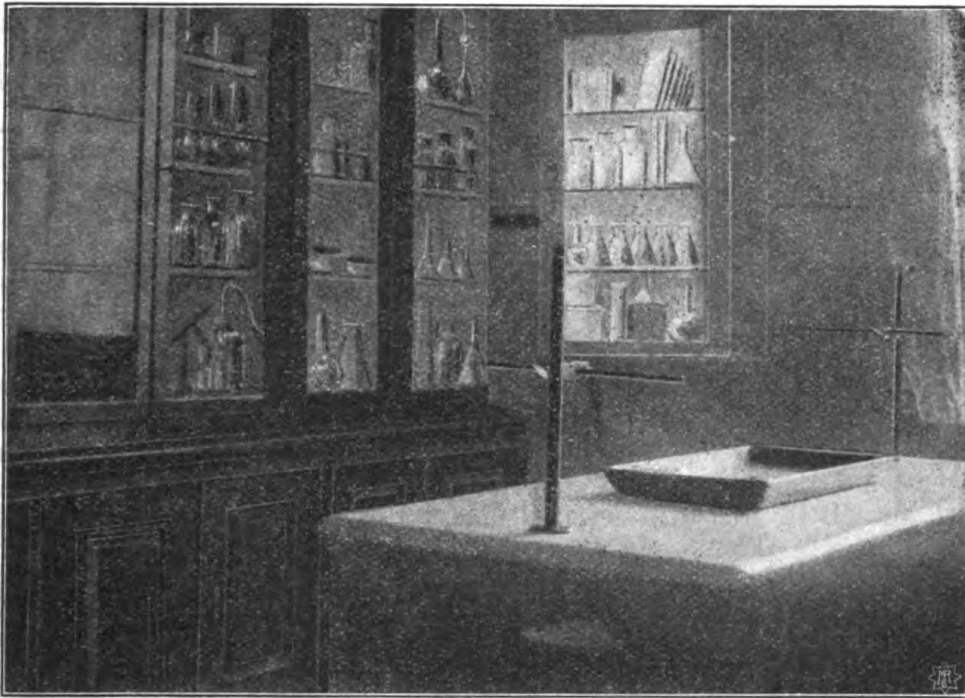


Fig. 8.

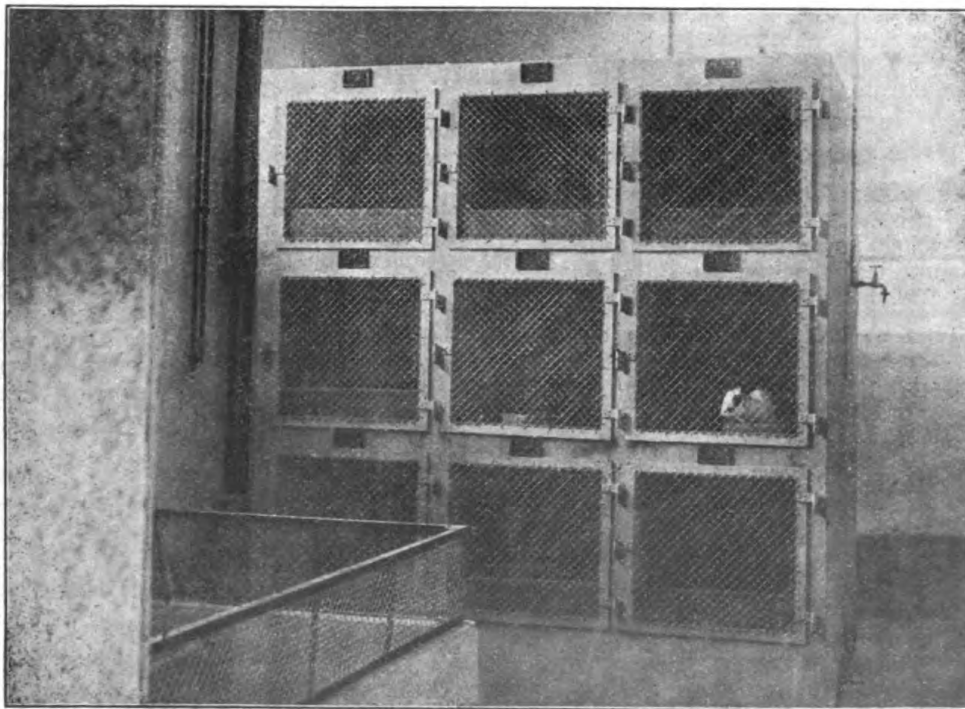


Fig. 9.

Operationszimmer (Fig. 8). Der daneben befindliche Raum dient als Vorratskammer und Operationszimmer. Um etwaige Sektionen und dergleichen Operationen nicht im Hauptlaboratorium ausführen zu müssen, ist ein besonderes Operationszimmer eingerichtet worden. Dasselbe enthält zwei Sektionstische, mit schwarzem Glase überdeckt, die durch ein Waschbassin getrennt sind, einen Operationstisch aus weißer, emaillierter Lava und einen kleinen Instrumentenschrank mit Glastablaren. An der einen Längsseite befindet sich ferner ein großer Glasschrank, in welchem die Vorräte an Glassachen aufbewahrt werden, ein zweiter Glasschrank steht neben den Sektionstischen in einer Ecke. Der Boden ist hier aus Asphalt hergestellt und ist mit einem Abfluß versehen.

Raum für Versuchstiere (Fig. 9). Für Versuchstiere ist ein besonderer Raum im Souterrain eingerichtet worden. In demselben befindet sich ein Tierstand aus Cementbeton, der auf jeder Seite 9 Käfige enthält. Jeder Käfig hat einen besonderen Abfluß in der Mitte der Hinterwand, der in einen zwischen den beiden Hälften des Tierstandes angebrachten Kanal mündet, der leicht mit Wasser ausgespült werden kann. In diesen Käfigen werden kranke oder geimpfte Tiere untergebracht. Für gesunde Tiere (Kaninchen und Meerschweinchen) sind noch 2 Abteilungen im gleichen Raume vorhanden.

Photographieraum. Im Souterrain befindet sich ebenfalls ein Raum, der für photographische Arbeiten eingerichtet ist und mit den hierfür nötigen Utensilien ausgestattet ist.

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Freudenreich, Ed. v., Das bakteriologische Laboratorium der schweizerischen landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsanstalten auf dem Liebefeld bei Bern, p. 631.

Jensen, Orla, Studien über die flüchtigen Fettsäuren im Käse nebst Beiträgen zur Biologie der Käsefermente. (Forts.), p. 604.

Kostytschew, S., Untersuchungen über die Atmung und alkoholische Gärung der Mucoraceen. (Schluß), p. 577.

Rodella, Antonio, Ueber die in der normalen Milch vorkommenden Anaerobien und ihre Beziehungen zum Käsereifungsprozesse. (Schluß), p. 569.

Severin, S. A., Die im Miste vorkommenden Bakterien und deren physiologische Rolle bei der Zersetzung desselben, p. 616.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof.
Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr.
Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W.50, Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XIII. Band.

Jena, den 1. Dezember 1904.

No. 21.

Preis für den Band (etwa 60 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

**Originalreferate aus bakteriologischen u. gärungsphysiologi-
schen etc. Instituten, Laboratorien etc.**

Nachdruck verboten.

Aus dem Institute für Gärungsgewerbe, Berlin.

Henneberg, W., Lebensdauer einiger Kulturheferassen
(Frohberg, Saaz, Rasse II und Rasse XII) im feuch-
ten Zustand bei niedrigen Wärmegraden, und Ein-
fluß verschiedener Organismen auf diese Hefen.
(Wochenschr. f. Brauerei. 1904. No. 19—23.)

Zu den Untersuchungen über die Lebensdauer wurden abso-
lute Reinkulturen von Hefen, die nach der Herzucht in Würze
und nach wiederholtem Auswaschen und Abgießen des Wassers in
kleinen Flaschen aufbewahrt wurden, benutzt. Es wurde der Ein-
fluß der Herzucht, der Temperatur, der Hefenmenge,

Zweite Abt. Bd. XIII.

41

des Feuchtigkeitsgrades und des Luftzutrittes auf die Lebensdauer, sowie die Abhängigkeit derselben von der Heferasse festgestellt. Von den Ergebnissen mag folgendes hier zusammengestellt sein:

Ein längeres Verweilen in der vergorenen Würze bei der Herzzucht verursacht eine Abschwächung und dadurch eine kürzere Lebensdauer der Hefezellen. Je kälter die Hefe lagert, desto länger leben die Zellen. Bei 7° C leben die Zellen länger als bei 12°. Die untergärige Bierhefe Froberg und die Brennereihefe Rasse II leben bei 22° ungefähr 3 Wochen, über 30° weniger als 1 Woche, während die Lebensdauer von Hefe Saaz über 15° nur etwa 1 Woche beträgt. Stets überleben einige Zellen längere Zeit die Hauptmasse, wodurch sich die verschiedene Widerstandsfähigkeit der Zellen zu erkennen gibt. Bemerkenswert ist, daß viele Zellen bei 7° C älter als 4 Monate unter den genannten Bedingungen werden können. Wenn Hefezellen in größerer Menge zusammenlagern, sterben sie infolge der Anhäufung der Stoffwechselprodukte im allgemeinen früher ab als in geringeren Mengen. Der ungünstige Einfluß der Stoffwechselprodukte ist ebenfalls die Ursache, weshalb die unten in der Hefemenge liegenden Zellen eine kürzere Zeit leben als die an der Oberfläche. Daß die Peptase der abgestorbenen Zellen nicht etwa die lebenden Zellen abtötet, geht einmal daraus hervor, daß einzeln liegende Zellen (in hängenden Tröpfchen) nicht länger leben, dann auch daraus, daß in verflüssigte Hefemasse mit reichlicher Menge wirksamer Peptase eingebrachte lebende Zellen nicht absterben.

Durch Wasserzusatz wird das Absterben offenbar infolge des dadurch bedingten lebhafteren Stoffwechsels und der beschränkten Atmung beschleunigt.

Damit steht im Zusammenhang, daß auf feuchter Watte (im Freudenreich-Kolben) die Zellen anfangs länger leben und ebenso, daß ein gewisser Grad von Trockenheit von günstigem Einfluß ist. Nimmt die Trockenheit noch weiter zu, so tritt unter den genannten Bedingungen ein schnelles Absterben ein.

Ein Zusatz von einer geringen Menge Hefewasser war von keiner besonderen Einwirkung.

Bei Luftabschluß (Gummistopfen) war die Lebensdauer kürzer, wahrscheinlich da die aus dem Glykogen gebildete Kohlensäure giftig wirkt. Sauerstoffentziehung durch Aufbewahrung über alkalischer Pyrogalllösung hatte keinen deutlichen Erfolg.

Die verschiedenen Rassen verhalten sich nicht gleichmäßig. Besonders wichtig erscheint, daß die Hefe Saaz auch hier bei weitem am wenigsten widerstandsfähig ist. Wie früher schon erwähnt, dürfte nämlich die geringe Vergärung in Würze mit der geringen Widerstandsfähigkeit dieser Hefe in Zusammenhang stehen.

Bei diesen Versuchen wurde ebenso, wie früher bei den Abtötungsversuchen durch Hitze, beobachtet, daß die Zellen vor dem Absterben die Fähigkeit zu sprossen verlieren, ohne daß ihr mikroskopisches Aussehen und ihr Verhalten bei Farbstoffzusatz sich geändert hat. Der Uebergang zu solchen „matten Zellen“ wird durch die erst nach längerer Zeit (2 Tagen) aussprossenden Zellen dargestellt.

Wenn Hefe unter den genannten Bedingungen lagert, so bildeten sich bisher nur bei der Brennereihefe Rasse II Sporen. Eine Vermehrung der Zellen wurde bei günstiger Temperatur erst im weiteren Verlauf des Versuches, wenn durch Selbstverdauung der abgestorbenen Zellen eine größere Menge Nahrungsstoffe sich gebildet hatte, und zwar an der Oberfläche der Hefemenge beobachtet. Die hier entstehenden Zellen sind zum Teil, wie aus der früheren Mitteilung: Abnorme Zellformen von Brennereiheden (diese Zeitschr. Bd. XIII. 1904. No. 5/7. p. 150) hervorgeht, pathologischer Natur, bei Hefe Froberg meist eiweiß- und fettreiche rundliche, normal aussprossende Reservezellen.

Zu erwähnen ist ferner, daß beim Lagern der Hefe der bei der Rasse Froberg fast in jeder Zelle in der Vakuole befindliche große runde Fettkörper allmählich verschwindet. Nach dem Tode der Zelle zieht sich bei den bei niederen Temperaturen aufbewahrten Heden das Plasma meist nicht von der Zellhaut zurück, so daß die Körnchen zunächst ihre Lagerung wie im Leben behalten und die Selbstverdauung in der ersten Zeit nur an der Plasmaaufhellung zu erkennen ist. Zwischen den Zellen, öfter auch im Inneren derselben, bilden sich aus den durch die Selbstverdauung entstandenen Stoffen aus Nadeln bestehende Kristallmassen.

Die Reaktion der leimartig riechenden, wie Hefeextrakt schmeckenden abgestorbenen Hefemasse wird allmählich alkalisch. Erhitzt man diese Masse, so entwickelt sich Ammoniak, und zwar besonders reichlich nach Hinzufügung von Kalilauge. Oftmals wurde festgestellt, daß die Hefemasse in Nachbarschaft fauler Hefe sehr leicht Ammoniak aufnimmt und infolgedessen frühzeitig alkalisch reagiert.

Versuche mit Infektionen.

Es wurden *Penicillium*, *Oidium*, *Mycoderma* α , 2 Heubacillen-, 2 Fäulnisbacillen- (x und y) und 5 Milchsäurebacillenarten (A bis E), sämtlich aus frischer oder fauler abgepreßter Brennereihefe isoliert, in ihrem Verhalten in der Reinkulturhefe untersucht. Zur Feststellung des durch die einzelnen Organismen in der Hefemasse erzeugten Geruches mußten die einzelnen Versuchsgefäße in völlig luftdicht abgeschlossenen größeren Glasgefäßen aufbewahrt werden.

In gekochter Hefe (also in Hefe ohne wirksame En-

zyme) wurden die untersuchten Pilzarten (Heubacillen, *Bacillus x*, *Oidium* und *Penicillium*) schon nach 1 Tag sehr üppig.

In bei 49° verflüssigter Hefe, die also zwar abgestorben, aber noch reich an wirksamen Enzymen ist, lebten *Bacillus x*, *Milchsäurebacillus A* und *B*, *Oidium*, *Penicillium* und Kahlhefe, dagegen nicht die beiden Heubacillenarten.

Sämtliche geprüfte genannte Organismen, besonders *Oidium* und *Milchsäurebacillen*, können sich in der lebenden Hefemenge entwickeln. Ueber den noch nicht abgeschlossenen Versuch mit einigen anderen näher bekannten Bakterien (neuerdings in der Wochenschr. f. Brauerei publiziert) soll demnächst an dieser Stelle referiert werden.

Auf die Lebensdauer der Hefe wirken stets sehr ungünstig die Heubacillenarten, *Bacillus x* und *y*, *Oidium* und *Penicillium*; in geringerem Grade sind die Kahlhefe und manche *Milchsäurebacillen*arten schädlich. Entsprechend des Oberflächenwachstums tötet *Oidium lactis* zunächst die an der Oberfläche lagernden Hefezellen.

Die *Milchsäurebacillen* verursachen teilweise einen sehr eigentümlichen, der Fäulnisbacillus *x* einen widerwärtigen parfümartigen Geruch (etwas nach Bittermandelöl). Ein Geruch nach faulem Kohl war in den Mischkulturen mit Heubacillen, mit *Bacillus y* und mit *Oidium lactis* eingetreten. Die mit dem Heubacillus *A* geimpfte Hefemenge roch eine Zeitlang genau wie Harzkäse. Schließlich rochen die genannten Kulturen nur noch nach Ammoniak. Besonders bei Kahlhefe, *Oidium*, Heubacillus *A* und *Bacillus x* ließ sich dieses Gas in größerer Menge nachweisen. Die Anwesenheit von *Penicillium* bedingt keinen besonderen Geruch (Geruch nach Schimmel).

Während die *Milchsäurebacillen* die Reaktion nicht merklich beeinflussen, wurde diese durch die Heubacillen, *Bacillus x* und *y*, *Oidium*, *Penicillium* und Kahlhefe stark alkalisch, was sich schon durch die dunkelbraune Farbe der Hefemasse zu erkennen gibt. Durch *Oidium*, Heubacillus *A*, *Bacillus x* und *y* verwandelt sich schließlich die Hefemasse in eine schleimige, schwarze, stinkende Masse.

Der Grad der Selbstverdauung in den Hefezellen wird durch die eingeimpften Organismen nicht verändert, ebenso bleibt, mit Ausnahme bei der *Penicillium*- und der Heubacillus *A*-Infektion, die Zellhaut stets erhalten. *Penicillium* vermag besonders leicht die Zellhäute aufzulösen.

In der abgestorbenen Hefemenge bleiben die eingeimpften Organismen lange Zeit, so z. B. *Milchsäurebakterien* länger als 2 Monate, lebensfähig. Durch einen Zusatz von Hefewasser zu der Hefemasse wird die Entwicklung der genannten Pilze nicht merklich beeinflusst.

Bei Luftabschluß durch Gummistopfen kamen Heubacillen überhaupt nicht zur Entwicklung, wurden sogar ebenso wie *Bacillus x* abgetötet. Sehr gering war unter diesen Bedingungen das Wachstum von *Oidium*, *Penicillium*, Kahlhefe und Bacillen *x* und *y*. Es dürfte dies die aus dem Glykogen entstandene Kohlensäure verursachen. Sauerstoffentziehung durch alkalische Pyrogalllösung verhinderte die Entwicklung des *Heubacillus* völlig, während die des *Bacillus x*, *Oidium* und *Penicillium* stark gelähmt wurde.

Es ist besonders hervorzuheben, daß die Schädigung der Hefe durch die genannten Organismen nicht durch Mischkulturen in hängenden Würzetröpfchen deutlich erkannt werden kann, da auch in Gegenwart der oben als schädlich bezeichneten Pilze die Hefe auszusprossen vermag. Die Hefe stellt bei starker Infektion bald ihre Vermehrung ein, jedoch könnte dies auch durch Mangel an Nahrung verursacht werden.

Autoreferat.

Referate.

Rayman, Bohuslaw et Kruls, Karel, Des noyaux des bactéries. (Bull. international de l'Acad. d. sciences de Bohême. Rocnik XII. Trida 2. Cirlo 31.)

Die Verff. hatten eine Differenzierung der Hefenkerne mit Hilfe des von Janssen und Leblanc empfohlenen Vorgehens erreicht, nämlich durch Fixierung mit Jodjodkalium und Färbung mit Eisenhämatoxylin. Mittels eines anderen Verfahrens haben sie jedoch noch bessere Resultate erzielt: Sie fixierten durch Trocknung (die durch den Aufenthalt im Trockenapparate dauernd unterhalten wurde) auf einem gut gereinigten Deckglase und färbten mit Alizarin P. S. (von der Firma Bayer & Co. in Elberfeld) nach vorhergehendem Beizen mit Eisenalaun. Sie haben diese Methode auf die Bakterien angewandt, und es ist ihnen gelungen, den Kern verschiedener Arten zu differenzieren (*B. mycoides*, *B. radicosus*, *B. oxalaticus*). Sie haben diese Untersuchung mit Hilfe einer 3000fachen Vergrößerung vorgenommen und haben gefunden, daß bei derartigen Vergrößerungen die Bilder, die man mittels der Mikrophotographie erhielt, besser waren als die, welche die direkte mikroskopische Beobachtung lieferte. Hier ist also nach Angabe der Verff. ein Untersuchungsmittel gegeben, welches bei Studien über den Bau der niederen Organismen nicht mehr außer acht gelassen werden darf.

Folgendes sind die Ergebnisse ihrer Untersuchungen: Die Bakterien haben einen wirklichen Kern von der Form eines stark gefärbten Granulums, welcher dem Kern der Hefen ähnlich sieht. In den jungen und noch sehr kurzen Zellen bemerkt man gewöhnlich zwei sehr kleine Kerne; in den älteren und stark verlängerten Zellen unterscheidet man in der Mitte nur einen dicken

Kern. Bisweilen enthalten die verlängerten Zellen zwei Kerne in der Mitte; aber sie sind alsdann in der Mitte eingeschnürt. Die Verff. sind geneigt, an eine Kopulation zwischen den jungen, kurzen Zellen mit zwei Kernen zu glauben, woraus dann die verlängerten Zellen mit einem dicken Kerne hervorgingen. Sie vergleichen diesen Vorgang mit der von Schaudinn im Augenblick der Sporulation bei B. Bütschlii beobachteten Kopulation. Nach meiner Meinung jedoch müßte untersucht werden, ob die zwei Granula der jungen Zellen tatsächlich Kerne sind. Die Photographieen dieser Stadien sind nicht sehr scharf, und nur die verlängerten Zellen scheinen einen Kern zu haben. Es ist möglich, daß in den jungen, kurzen Zellen der Kern schwer zu unterscheiden ist und daß die beiden Granula, deren Zweizahl überdies nicht konstant zu sein scheint, keine Protoplasma granulationen sind. Jedenfalls scheint mir die Hypothese einer Kopulation durch nichts gerechtfertigt. Die Verff. äußern nichts über die Kernteilungen; eine gewisse Figur könnte einen an eine Karyokinese denken lassen, aber das kann an einer optischen Täuschung liegen. In den älteren Zellen wird das Protoplasma zu Vakuolen, wird granuliert und der Kern läßt sich nicht mehr unterscheiden. Dies erklärt vielleicht die Tatsache, daß die meisten Forscher bei den Bakterien keinen eigentlichen Kern finden konnten.

Der Arbeit sind schöne Mikrophotographieen beigegeben, die sehr gut zu sein scheinen. Die Untersuchungen sind, obwohl sie noch nicht endgültig das Vorhandensein eines Kernes in den Bakterien beweisen, dennoch sehr interessant, denn sie gelangen zu denselben Folgerungen als die noch später erschienene Studie von Vejdovsky.

Guilliermond (Lyon).

Maire, R., Sur l'existence des corps gras dans les noyaux végétaux. (Compt. rend. de la soc. de biol. de Paris. T. LVI. 1904. 14 avril. p. 736—737.)

Bereits von Carnoy sind Kerne beschrieben worden, die Reserveöltröpfchen enthielten. Maire berichtet in dieser Arbeit über genauere Beobachtungen, welche das Vorkommen von Öltröpfchen in den Kernen gewisser Pilze beweisen. In den jungen Protobasidien von *Coleosporium campanula* enthalten die Kerne Fetttröpfchen, welche im Karyoplasma sitzen und auf einer Seite das chromatische Reticulum und den Nucleolus zurückdrängen.

Die Bildung der Fettkörper beginnt in dem sekundären Kern nach Verschmelzung der beiden Primärkerne; sie tritt alsdann im Cytoplasma auf, in dem Maße, wie das Fett im Kerne verschwindet.

Dies führt zu dem Gedanken, daß der Kern das primum movens der Sekretion ist, was auch schon einige frühere Beobachtungen zu beweisen sich bemühten. In den Sporen von *Elaphomyces variegatus* erscheinen die Fettkörper gleichfalls in den Kernen; danach nehmen sie das ganze Cytoplasma in Besitz.

Guilliermond (Lyon).

Guilliermond, A., Sur le noyau de la levure. (Annales mycologici. Vol. II. 1904. p. 184—189. Mit 1 Textfigur.)

Die Hefezelle enthält nach früheren Untersuchungen einen Kern und unabhängig davon eine Vakuole, welche die sogenannten metachromatischen Körper einschließt. Diese beiden Gebilde werden, wie Verf. ausführt, von einzelnen Autoren verwechselt, z. B. ist die Behauptung Janssens, es bestehe in der Hefezelle vor der Sporenbildung eine Karyogamie, darauf zurückzuführen, daß der eine der beiden von ihm beobachteten Kerne, welche nachträglich verschmelzen sollen, eben nichts anderes ist, als die oben genannte Vakuole.

Die Struktur des Hefekernes ist bei den einzelnen Hefearten verschieden; derselbe enthält entweder einen Nucleolus und Chromatinkörper oder ein einziges chromatisches Körnchen, welches einem Nucleolus gleicht.

Durch Vergleich mit den Verhältnissen bei anderen Ascomyceten gelangt Verf. zu dem Resultat, jenes chromatische Körnchen als Nucleolus aufzufassen; das Chromatin sei zwar vorhanden, aber infolge seiner geringen Menge und der Kleinheit des Kernes nicht erkennbar.

Was endlich die Kernteilung bei der Sporenbildung anlangt, so bestreitet Verf. entschieden eine Karyokinese. Die achromatische Kernspindel, welche verschiedene Forscher bei der Kernteilung beobachtet haben wollen, sei nichts anderes als sporogenes Plasma.

Neger (Eisenach).

Griessmayer, Ueber verschiedene Hefenenzyme. (Allg. Brauer- u. Hopfenztg. Jahrg. XLIV. 1904. No. 219.)

Verf. bespricht die in der Hefenzelle vorkommenden Enzyme, Katalase, Oxydase und Invertase, und deren Darstellung unter Berücksichtigung der einschlägigen Literatur.

Kausch (Charlottenburg).

Pfister, F. R., Ursachen der Betriebsinfektion im Lüftungsverfahren und Mittel zu deren Verhütung. (Oesterr. Brennereiztg. Jahrg. II. 1904. No. 19.)

Verf. führt aus, daß sich die Bekämpfung der Infektion bei der Luftheferzeugung, welche sich besonders in der wärmeren Jahreszeit erheblich steigert, bei gutem Willen und richtigem Verständnis der dabei in Betracht kommenden Verhältnisse durch Beobachtung exakter Reinlichkeit bei den zu verwendenden Rohmaterialien, Werksvorrichtungen und Lokalitäten mit Erfolg durchführen läßt. Man soll nur gesunde Rohmaterialien nehmen und letztere noch in gründlicher Weise von Sand, Staub u. dergl. befreien. Besonders sind die Malzkeime gründlich zu reinigen. Die Werksvorrichtungen (Vormaisch-, Läuter- und Gärbottiche) sind unmittelbar nach ihrer Entleerung mit heißer Sodalösung sorgfältig unter Zuhilfenahme mit Bürsten zu reinigen und dann zu sterilisieren. Auch die Spiralkühler müssen mit heißer Sodalösung gefüllt werden und diese Lösung soll bis zur weiteren Benutzung in den Kühlern stehen bleiben. Kaltwasser- und Anschwänzbassin sollen monatlich von den Schleimmassen am Boden und

den Innenwänden mittels Kalk und heißem Wasser gereinigt werden. Ferner sollen die vom Bassin abzweigenden Rohrleitungen mit heißer Seifensteinlösung (Aetznatron) gefüllt werden und so 10 bis 12 Stunden stehen bleiben. Ebenso sollen die Filterpresse, das Würzesammelbassin und die Rohrleitungen für die geläuterte und vergorene Würze gründlich gereinigt werden.

Kausch (Charlottenburg).

Stift, A., Ueber das Auftreten des Spaltpilzes *Crenothrix polyspora* im Luftpumpenwasser einer Zuckerfabrik. (Oesterr.-ungar. Zeitschr. f. Zuckerind. u. Landw. Wien 1903. Heft 6. 3 p.)

Zum ersten Male wurde der Pilz im Betriebe der Zuckerfabrikation nachgewiesen, ohne daß er Betriebsstörungen zur Folge hatte. Die Infektion erfolgte in den Kühlbeeten.

Matouschek (Reichenberg).

Schöne, Albert, Die Mikroorganismen in den Säften der Zuckerfabriken. (Zeitschr. d. Vereins d. Deutschen Zuckerindustrie. 1904. p. 1060.)

In Fortsetzung einer früheren Arbeit gibt Verf. Beobachtungen und Untersuchungsergebnisse über die von ihm isolierten und reingezüchteten Mikroben. Man kann die in normalen Säften vorkommenden Lebewesen in folgende vier Gruppen einteilen: 1) *Leuconostoc* und andere schleimbildende Kokken, 2) *Bacterium coli*-artige Bakterien, 3) *Bacillus mesentericus*- und *Bacillus subtilis*-artige Bacillen, 4) indifferente und zufällige Organismen.

Leuconostoc und schleimbildende Kokken. Hierher gehört der bekannte und gefürchtete *Leuconostoc mesenteroides*, den Verf. in normalen Diffusionssäften gefunden hat. (Bezüglich des Verhaltens desselben auf verschiedenen Nährböden und seine Eigenschaften muß wie bei den anderen noch hervorzuhebenden Organismen auf das Original verwiesen werden.) Weiterhin wurden in Diffusionssäften ein schleimbildender *Coccus I* und *II*, sowie ein schleimbildendes Kurzstäbchen gefunden; letzteres auch auf frischen Schnitzeln.

Coliartige Bakterien. Dieselben gehören der Gruppe der *Coli*-Bakterien an oder stehen ihr sehr nahe und wurden in Diffusionssäften, Dicksäften und im Vakuum gefunden. *Bacterium A*, *B* und *C* sind einander sehr ähnlich und besitzen lebhaft Eigenbewegung, während *Bacterium D* sich durch den völligen Mangel an Eigenbewegung auszeichnet und dem *Bacterium aërogenes* näher zu stehen scheint.

***Bacillus mesentericus*- und *subtilis*-artige Bacillen.** Hierher gehören alle die lebhaft beweglichen, mehr oder weniger breiten und langen, sporenbildenden Stäbchen, welche stets in allen Säften zu finden sind. Isoliert wurden: *Clostridium gelatinosum* Laxa (wahrscheinlich der sogenannte „Butter-

säurebacillus“ vieler Autoren), *Bacillus mesentericus fuscus* und *Bacillus subtilis*.

Indifferente und zufällige Organismen. Gefunden wurden Kokken (Sarcinen nur vereinzelt), Stäbchenbakterien, ferner Hefen und Pilze (sehr häufig im Diffusionssaft).

Der *Leuconostoc* ist bisher nur in Rüben- und Rohrzuckerfabrikssäften gefunden worden. Wie er in die Fabriken gelangt, weiß man nicht. Möglicherweise kommt er aber in dem Ackerboden vor. Der Boden birgt eine unermeßliche Menge Bakterien, und nach Untersuchungen der letzten Zeit ist es nicht mehr zweifelhaft, daß die Bodenbakterien bei der normalen Entwicklung der Pflanze eine bedeutende Rolle spielen. Die Coli-artigen Bakterien sind ausgesprochene Darmbewohner und ihre Verbreitung in den Ackerböden durch den Dünger nicht verwunderlich. Durch die an den Rüben haften gebliebene Erde gelangen sie dann in die Diffusionssäfte. Die Vertreter der *Mesentericus*- und *Subtilis*-Gruppe sind in der Natur ungeheuer verbreitet, speziell im Boden und auf den Pflanzen, so daß deren Anwesenheit nicht verwunderlich ist. Das *Clostridium gelatinosum* gehört wahrscheinlich zu der speziellen Flora des Rübenbodens oder der Rübenpflanze. Die übrigen Mikroorganismen stammen teils aus dem Wasser, teils aus dem Boden, teils auch aus der Luft.

Die angeführten Mikroorganismen können in der Zuckerrfabrikation dadurch schädlich wirken, daß sie den Zucker in Gallerte und Schleim verwandeln. Die Eigenschaft der Bakterien, den Zucker zum Aufbau der Zellenmembran zu benutzen und in ein schleim- oder gallertartiges Kohlenhydrat zu verwandeln, ist sehr verbreitet, und die Mengen Zucker, welche hierzu verwendet werden, werden den Lösungen, in denen sich solche Mikroorganismen in Menge befinden, entzogen, sind chemisch verschwunden und entgehen somit der Kontrolle. Leichter chemisch nachweisbar ist die Wirksamkeit der Mikroorganismen durch ihre Eigenschaft, aus den Kohlenhydraten Säuren zu bilden, und kommt diese Eigenschaft allen hervorgehobenen Mikroben in größerem oder geringerem Maße zu. Das Vermögen, die Saccharose durch Inversion anzugreifen, ist unter den Mikroorganismen ziemlich verbreitet. Alkoholbildung wies Verf. nach bei dem schleimbildenden Kurzstäbchen, den Coli-artigen Bakterien A, B, C und D, *Clostridium gelatinosum*, *Mesentericus fuscus* und dem säurebildenden *Coccus*, Gasbildung trat am stärksten bei den Coli-artigen Bakterien auf, ferner bei den schleimbildenden Kokken und Stäbchen und *Clostridium gelatinosum*. Das häufige Auftreten brennbarer Gase in den Diffuseuren, speziell bei Verarbeitung recht schmutziger Rüben, ist jedenfalls den Coli-artigen Bakterien zuzuschreiben. Möglicherweise sind diese Bakterien auch die Ursache des Auftretens von Schwefelwasserstoff. Die häufig ausgesprochene Ansicht, daß in einer sauren Flüssigkeit wie dem Diffusionssaft und bei einer Wärme von 40—70° unmöglich Bakterien leben oder gar eine Tätigkeit entwickeln können, wird vom Verf. durch Angaben aus der Literatur widerlegt. Der

Leuconostoc verträgt eine Temperatur von 75° während einer Viertelstunde gut und kann sogar Temperaturen von 86–87° 5 Minuten ohne Schaden aushalten. Auch die Coli-artigen Bakterien ertragen viel Wärme, ferner widersteht *Bacterium Coli commune* einer stark sauren Reaktion. Das *Clostridium gelatinosum*, sowie die Glieder der *Mesentericus*- und *Subtilis*-Gruppe entfalten ebenfalls bei einer die gewöhnliche Temperatur übersteigenden Wärme eine bedeutend stärkere Lebensfähigkeit. Aus der Literatur ist bekannt, daß Zusätze von Desinfektionsmitteln betreffs Konservierung des Diffusionsaftes von gar keiner oder nur geringer Wirkung waren. Dafür geben die folgenden Tatsachen eine Erklärung. Gegen Phenol und Formalin ist z. B. *Bacterium Coli commune* wenig empfindlich. Sollten auch die Organismen getötet werden, so hindern sie nicht die Wirkung der Enzyme. Auch gegen Hitze sind letztere wenig empfindlich, sie sind sogar meistens bei höherer Temperatur wirksamer; man hat beobachtet, daß Spaltpilzinvertin 100° über eine Minute verträgt.

Verf. will die Resultate seiner Untersuchungen nicht verallgemeinern, nachdem erstere von der Beschaffenheit des Bodens, des verwendeten Wassers, dem Rübenmaterial, den Ernteverhältnissen etc. abhängig sein werden. Weitere Untersuchungen, speziell der Diffusionsäfte, sind daher zur Lösung mancher zur Zeit schwebenden Fragen erwünscht.

Stift (Wien).

Pfeiffer, Th., Stickstoffsammelnde Bakterien, Brache und Raubbau. 53 p. Berlin (Parey) 1904.

Ausgehend von den klassischen Arbeiten Hellriegels, welche das Rätsel der Stickstoffsammlung der Leguminosen lösten, bespricht Verf. die Untersuchungen Berthelots, um schließlich die Versuche von Caron-Ellenbach und Schultz-Lupitz zu erörtern.

Im ersten Teile der interessanten Arbeit finden wir eine kritische Beurteilung der Wirkung stickstoffsammelnder Bakterien im Boden, und zwar der Caronsche Wirtschaft gewählt. An der Hand der Erntezahlen, Düngung, Bodenmächtigkeit etc. — die im Original zu verfolgen sind — sucht Verf. zu beweisen, daß das Stickstoffkapital des Bodens ein enormes ist, im vorliegenden Falle 4545 kg pro Hektar; demgegenüber steht eine Stickstoffentnahme durch eine Weizenernte von 72 kg. Zu dem Rest an Stickstoff gesellt sich wieder ein Plus durch zugefügte Stallmistdüngung. Dagegen sind die durch Regenwasser zugeführten Mengen, sowie die durch Drainwasser entstehenden Verluste unberücksichtigt gelassen. Wenngleich Verf. eine Stickstoffanreicherung im Boden durch Mikroorganismen nicht in Abrede stellt, so glaubt er doch, daß dieselbe nicht eine derartig wirtschaftliche Bedeutung habe, wie ihr zur Zeit beigelegt wird.

Als zweites Beispiel finden wir die ewigen Felder in Halle angeführt. Auch hier steht Verf. auf dem Standpunkt, daß ledig-

lich der Stickstoffvorrat des Bodens in Betracht gezogen werden müsse. Ein weiteres Beispiel liefern die Rothamsteder Versuche, die ebenfalls ein ausgiebiges Material für die Beweisführung ergeben.

Verf. glaubt, daß demnach eine intensive Beteiligung der stickstoffsammelnden Bakterien an der Ernährung der Pflanzen nicht angenommen werden könne, sondern daß die ohne Stickstoffdüngung erzielten hohen Ernteerträge durch die allmählich stattfindende Zersetzung des Stickstoffkapitals im Boden erklärt werden müsse. Besonders interessant ist die Besprechung eines Vegetationsversuches von Berthelot, welcher der Praxis am besten angepaßt war. An der Hand der sich ergebenden Zahlen stellt sich heraus, daß, falls die Angaben Berthelots stimmen, sich in dem Zeitraume von 7 Monaten ein Stickstoffplus von 810 kg pro Hektar aufweisen würde, selbst bei Einrechnung etwaiger Denitrifikationsprozesse. Den Ausführungen des Verf. über die Unzulänglichkeit unserer Stickstoffbestimmung des Bodens kann Ref. nur beipflichten. Vom hiesigen Versuchsfelde wurden ein ganzes Jahr lang alle 14 Tage auf das sorgsamste Bodenproben entnommen, alsdann je 10mal 50 g Boden, um den Fehler möglich zu verkleinern, zur Stickstoffuntersuchung verwandt, wobei sich die widersprechendsten Resultate ergaben, so daß keine einheitliche Kurve, sondern eine Zickzacklinie entstand, welche einen Einblick auf eine etwaige Stickstoffbewegung zur Zeit noch als völlig aussichtslos erscheinen läßt.

Den nächsten Abschnitt der interessanten Arbeit bildet die Besprechung der Brachewirkung, deren erster Teil wieder dem Stickstoffgewinn gewidmet ist, dessen Herkommen wir lediglich der Aufschließung des im Boden vorhandenen Stickstoffkapitals zu verdanken. Als Beispiele dienen die bereits genannten Versuche.

Auch die durch Brache bedingten Mineralstoffgewinne werden auf Kosten des Nährstoffkapitals des Bodens zurückgeführt (vergl. auch v. Rümker, Der Boden und seine Bearbeitung. 2. Aufl. Berlin [Parey] 1904). Bezüglich des Raubbaues erörtert Verf. die Frage, unter welchen Umständen dieser gestattet ist. Man kann denselben anwenden auf Moorböden, deren Stickstoffschatze ja bekannt sind, ferner auf kalireichen Verwitterungsböden. Auch für den Raubbau führt Verf. verschiedene Beispiele an, um dann auf den Ersatz der Nährstoffe für die Pflanzen einzugehen. Als Stickstoffquellen zur Erhaltung der „alten Kraft“ wird Stallmist und Gründüngung angeführt, während Salpeter und Ammoniak rasch wirkende Stickstoffquellen bedeuten, wie ja bekannt ist. Verf. schließt das Kapitel mit den Worten: „Der forzierte Raubbau, den wir mit Hilfe der Brache am Stickstoffkapital treiben, erfolgt meiner Ueberzeugung nach auf Kosten weit zurückliegender Stallmisdüngungen, und diesen haben wir auch in der Hauptsache die Erfolge zuzuschreiben, die man so gern auf das Konto der stickstoffsammelnden Bakterien schreibt.“

Die Resultate genannter Besprechungen faßt Verf. dahin zusammen, daß über Stickstoffsammler im Boden bisher sicheres noch nicht bekannt ist, und die bisher erzielten Erfolge sich auch anders deuten lassen; weiterhin, daß das Stickstoffkapital des Bodens eine langsam fließende, auf lange Jahre reichende Quelle sei; daß eine kräftige Durchlüftung des Bodens eine gesteigerte Bakterientätigkeit bewirke, deren Produkte, z. B. lösliche Stickstoffverbindungen auf unbebautem Boden zum größten Teile mit den Sickerwässern verloren gehen; daß ferner der Leguminosenanbau der Brache mit Bezug auf Nährstoffausnutzung unbedingt vorzuziehen sei; daß bei mangelnder Begrünung des Brachefeldes das Mineralstoffkapital schlechter aufgeschlossen werde; daß die Brache unter allen Umständen einen forzierten Raubbau am Stickstoffkapital bedeute, weshalb der Landwirt, da die Brachehaltung in Ausnahmefällen zur physikalischen Verbesserung leider unentbehrlich sei, möglichst wenig Gebrauch machen müsse; daß sich die schädlichen Folgen eines weitgehenden Raubbaues selbst bei Zufuhr großer Mengen künstlichen Düngers noch längere Jahre bemerkbar mache; daß sich der durch Raubbau verursachte Verlust an Stickstoffkapital durch N-haltige Düngemittel nicht vollwertig gedeckt werden könne; daß die vermehrte Stallmistzufuhr früherer Zeit es ist, welcher das Stickstoffkapital im Boden, von dem wir heute zehren, zu verdanken ist, und endlich, daß der Stallmist die alte Kraft des Bodens bewirkt und das beste Mittel ist, um den schädlichen Folgen des Raubbaues entgegenzuarbeiten.

Die für Wissenschaftler, sowie Praktiker so wertvolle Arbeit konnte hier leider nur sehr kurz besprochen werden, im übrigen wird auf das Original, das eine Fülle anregender Gedanken birgt, verwiesen.

Thiele (Breslau).

Saccardo, P. A., De diagnostica et nomenclatura mycologica, admonita quaedam. (Annales mycologici. Vol. II. 1904. p. 195—198.)

Verf. macht Vorschläge zur einheitlichen Regelung der mykologischen Nomenklatur und Artenbeschreibung. Diagnosen sollen womöglich in lateinischer oder wenn dies nicht, in englischer, französischer, deutscher oder italienischer Sprache verfaßt werden, Wirtspflanzen mit lateinischen Namen angegeben, Maße im metrischen System (bzw. Mikromillimetern) ausgedrückt werden; das bisher übliche Zeichen \times zwischen den Angaben für Länge und Breite soll durch das Zeichen \vee ersetzt werden. Weiterhin macht Verf. Vorschläge zur einheitlichen Benennung der Familien (Namen sollen alle auf „ae“ endigen), zum konsequenten Gebrauch der Bezeichnungen: Sporae, Sporulae, Sporidia, conidia, sorus, peridium, pileus etc. etc. Ferner wird besonders für die Nomenklatur der heterözischen Rostpilze vorgeschlagen, ein einheitliches Prinzip zu Grunde zu legen. Maßgebend soll derjenige Name sein, der den Teleutosporenzustand angibt.

Neger (Eisenach).

Fischer, Ed., Fortsetzung der entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen über Rostpilze. (Berichte der schweiz. bot. Ges. 1904. Heft 14. p. 1—13.)

11. Zur Kenntnis der schweizerischen Gymnosporangien. Durch Infektionsversuche mit Teleutosporen von *Gymnosporangium confusum* wurde festgestellt, daß diese Art außer auf den bisher bekannten Nährpflanzen (*Crataegus*, *Cydonia*, *Mespilus* und in seltenen Fällen Birnbaum) auch auf *Sorbus torminalis* leben kann, daß sie dagegen nicht auf *Cotoneaster vulgaris* überzugehen vermag. Ein auf *Cotoneaster vulgaris* und *Cotoneaster tomentosa* in der Schweiz beobachtetes *Aecidium*, das morphologisch mit demjenigen von *Gymnosporangium confusum* übereinstimmt, ist somit mit *Gymnosporangium confusum* nicht identisch.

12. Beitrag zur Kenntnis der alpinen Weidenmelampsoren. Eine in der Schweiz auf *Salix retusa* häufig vorkommende *Melampsora* bildet nach Infektionsversuchen des Verf. ihr Caeoma auf *Larix europaea*, wogegen *Saxifraga*-Arten nicht infiziert wurden. Mit den auf *Larix europaea* erhaltenen Caeoma-Sporen konnten wiederum erfolgreich rückinfiziert werden: *Salix retusa* reichlich; dagegen *Salix serpyllifolia* und *Salix reticulata* nur schwach. Gar keinen Erfolg ergab die Infektion auf *Salix helvetica*.

Morphologisch ist die in Rede stehende *Melampsora* identisch mit Klebahn's *Melampsora Larici-epitea*. Ob die beiden Pilze auch biologisch identisch sind, können erst Uebertragungsversuche auf die Wirtspflanzen der *Melampsora Larici-epitea* dartun.

13. *Puccinia Orchidearum-Digraphidis* Kleb. In Uebereinstimmung mit den Klebahn'schen Versuchen konnten mit Teleutosporen einer *Puccinia* vom Typus der *Puccinia sessilis* auf *Phalaris arundinacea* erfolgreich infiziert werden: *Platanthera bifolia*, *Gymnadenia conopsea* und *Listera ovata*, wogegen ein Erfolg auf *Polygonatum officinale*, *Paris quadrifolia* und *Allium ursinum* nicht eintrat.

Jacky (Bern).

Sydow, H. u. P., Neue und kritische Uredineen. [Fortsetzung.] (*Annales mycologici*. Vol. II. 1904. p. 27—31.)

Es wurden folgende neue Arten beschrieben:

Uromyces Antholyzae auf *Antholyza abyssinica* (Abyssinien), *U. Sparaxidis* auf *Sp. lineata* (Natal), *U. nyikensis* auf *Gladiolus nyikensis* (Afrika), *U. Melasphaerulae* auf *Melasphaerula graminea* (Cap), *Gymnosporangium aurantiacum* auf *Libocedrus decurrens* (California) — sicher verschieden von dem von H. Mayr auf *Libocedrus decurrens* beobachteten *G. Libocedri*, welches nur an älteren Zweigen Beulen bildend auftritt, während die vorliegende Art an den Blättern kleine Polster bildet — *Phragmidium*

affine auf *Potentilla Blaschkeana* (California) und *P. Andersoni*, *Uredinopsis Copelandi* auf *Athyrium Cyclosorum* (California), *Stichospora Madiæ* auf *Madia sativa* (von Clarke als *Coleosporium Madiæ* beschrieben), *Uredo Copelandi* auf *Arctostaphylos patulae* (California), *Uredo Pasadenae* auf *Gymnogramme triangulare* (California).
Neger (Eisenach).

Sydow, H. u. P., *Asteroconium Saccardoi* Syd. nov. gen. et spec. (Annales Mycologici. Vol. I. 1903. No. 1. p. 35—36.)

Beschreibung eines gallenbildenden Pilzes, der zu den Melanconiaceen gehört, morgensternartige Sporen besitzt und ein recht gutes Genus vorstellt. Auf lebenden Blättern von *Litsea glaucescens* aus Mexiko. Diagnose lateinisch.

Matouschek (Reichenberg).

Sydow, H. u. P., *Urophlyctis hemisphaerica* (Speg.) Sydow. (Annales mycologici. Vol. I. 1903. p. 517—518.)

Der von Spegazzini (1881) als *Uromyces hemisphaericus* beschriebene, auf *Bowlesia tenera* (in Chile und Argentinien) wachsende Pilz ist nichts anderes als *Uredophlyctis Kriegeriana* Magn. (1902), welche in Europa auf *Carum Carvi* und *Pimpinella magna* wächst; der Pilz muß deshalb *Urophlyctis hemisphaerica* heißen. Auch verschiedene andere von Spegazzini aufgestellte Arten sind damit zu vereinigen, z. B. *Protomyces vagabundus*, *Entyloma hemisphaericum*, *Oedomycetes hemisphaericus*.

Neger (Eisenach).

Delacroix, G., Sur une forme conidienneduchampignon du Black-rot (*Guignardia Bidwellii* Ellis Viala et Ravaz). [2^e communication.] (Travaux de la station de pathologie végétale. -- Bull. de la Soc. mycol. de France. T. XIX. 1903. No. 2. p. 128—132. Avec une figure dans le texte.)

Diese Mitteilung soll zur Bestätigung einer ersten, 1901 erschienenen Notiz dienen, die damals nicht durch Infektionsexperimente bekräftigt werden konnte. Die 1902 beobachteten Kerne der Weinbeere zeigten ausschließlich Sklerotien mit Konidienform ohne Pykniden und befruchtete Spermogonien. Die Konidien sind isoliert wie bei einem *Scolecotrichum* und haben meist keine Zwischenwände. Die Keimbildung in Wasser oder mit Pepton versetzten Medien hat keine sekundären Fruktifikationen ergeben. Die angestellten Infektionsversuche, die entweder mit Konidien gemacht wurden, die zuvor von den Sklerotien entnommen waren, oder mit Keimungen von Konidien, von Körnern ohne Konzeptakeln, haben positive Resultate ergeben und die erste über diesen Gegenstand gemachte Mitteilung bestätigt. Fortdauernde Feuchtigkeit scheint die unerläßliche Bedingung für die Entwicklung dieser Form in der Natur zu sein.

Langeron (Paris).

Delacroix, G., De la tavelure des Goyaves produite par le *Gloeosporium Psidii* n. sp. G. Del. (Bull. de la Soc. mycol. de France. T. XIX. No. 2. 1903. p. 143—145, avec 1 figure.)

Gloeosporium Psidii ist in Guyavaäpfeln gefunden worden, die braune Flecke aufwiesen, welche bis in eine Tiefe von 8 mm in die Fruchthülle eingedrungen waren. Die gesunden Gewebs-teile hatten reagiert und einen isolierenden Korkstreifen hervor-gebracht. Diese Tatsache beweist klar den Parasitismus des Pilzes. Der Zustand der Proben erlaubte nur die Beschreibung dieser neuen Art.
Langeron (Paris).

Orton, W. A., Plant diseases in 1903. (Yearbook of the United States Department of Agriculture. 1903. Washington 1904. p. 550—555.)

In dem umfangreichen, prächtig ausgestatteten letzten Jahres-berichte des Departements für Agrikultur widmet Verf. einen be-sonderen Abschnitt den im Jahre 1903 in den Vereinigten Staaten auf Kulturpflanzen mehr oder weniger häufig aufgetretenen pilz-parasitären Krankheiten. Der Aufzählung liegen die zahlreich eingelaufenen Berichte der einzelnen Staaten und Besitzer zu Grunde, wodurch auch die geographische Verteilung der betreffen-den Schäden deutlich ersichtlich ist. Es wurden als Krankheits-erzeuger folgende Pilze angeführt:

1) Auf Aepfel, Birnen und Quitten: *Glomerella rufomaculans*, *Venturia inaequalis*, *Cephalothecium roseum*, *Sphaeropsis malorum*, *Nectria ditissima*, *Bacterium mali*, *Bacillus amylovorus*, *Entomosporium maculatum* und *Fumago vagans*.

2) Auf Pfirsichen und anderen Steinfrüchten: *Cladosporium carpophilum*, *Sclerotinia* sp., *Sphaerotheca pannosa* und *Cylindrosporium padi*.

3) Auf Beerenfrüchten: *Plasmopara viticola*, *Coniothyrium* sp., *Sphaerella rubina*, *Septoria ribis*, *Cercospora angulata*, *Sphaerotheca mors uvae*.

4) Auf tropischen Früchten: *Colletotrichum gloeosporioides* und *Fusarium* sp.

5) Auf Kartoffeln: *Phytophthora infestans*, *Alternaria solani*, *Rhizoctonia* sp., *Corticium vagum* var. *solani* und *Fusarium oxysporum*.

6) Auf Tomaten: *Alternaria solani*, *Fusarium* sp., *Septoria lycopersici*, *Cladosporium fulvum*, *Rhizoctonia* sp., *Glomerella rufomaculans* und *Phyllosticta horticola*.

7) Auf Gurken und anderen Küchengewächsen: *Colletotrichum lagenarium*, *Alternaria* sp., *Bacillus tracheiphilus*, *Cladosporium cucumericum*, *Botrytis vulgaris*, *Peronospora Schleideniana*, *Urocytis cepulae*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia* sp., *Bremia lac-*

tucae, *Colletotrichum Lindemuthianum*, *Uromyces appendiculatus*, *Phyllosticta phaseolina*, *Pseudomonas phaseoli*, *Phytophthora phaseoli*, *Erysiphe* sp., *Puccinia endivae* und *Ceratocystis fimbriata*.

8) Auf Zuckerrüben, Flachs und Tabak: *Cercospora beticola*, *Rhizoctonia* sp., *Fusarium lini*, *Cercospora nicotianae*, *Thielavia basicola* und *Orobanche ramosa* (Phanerogam).

9) Auf Getreidearten und Futtergewächsen: *Helminthosporium inconspicuum*, *Uromyces phaseoli*, *Fusarium* sp., *Pseudopeziza Medicaginis*, *Phyllachora Trifolii*, *Macrosporium sarcinaeformae*, *Gloeosporium Trifolii*, *Uromyces Trifolii* und als Phanerogamen *Cuscuta Trifolii* und *epithymum*.

10) Auf Nuß-, Wald- und anderen Bäumen: *Pseudomonas Juglandis*, *Fusicladium effusum*, *Gloeosporium nervisequum*, *Phyllosticta* sp., *Marsonia Juglandis*, *Dothidea ulmea* und *Melampsora populina*.

11) Auf Gewächshaus- und Ornamentpflanzen: *Fusarium* sp., *Uromyces caryophyllinus*, *Septoria Dianthi*, *Heterosporium echinulatum*, *Alternaria Violae*, *Botrytis* sp., *Phragmidium* sp. und *Vermicularia trichella*.

Auf den Inselbesitzungen traten auf Kaffee *Hemileia vastatrix* und *Stilbum flavidum*, auf Tomaten *Bacillus solanacearum* und auf Kartoffeln ein *Fusarium* sp. auf.

Es werden in den betreffenden Abschnitten teilweise auch verbreitete Krankheiten ohne Erwähnung des beteiligten, gewiß bekannten Pilzes angeführt (Anthraknose, Rost, Wurzelfäule, Blackrot u. s. w.); andererseits ist bei einzelnen Schäden die Ursache derselben überhaupt noch nicht bestimmt ermittelt, weshalb auch auf den Krankheitserreger nicht hingewiesen werden konnte.

Pósch (Grinád, Ungarn).

Pósch, Karl, Die pilzparasitären Krankheiten ungarischer Kulturpflanzen. (*Fungi parasitici exiccati plantarum cultarum Hungariae*.) Grinád 1902—1904.

Bisher erschienen 3 Serien à 25 Exemplare in vier verschiedenen Ausgaben. Ausgabe I enthält die Präparate in 33 cm langen, 25 cm breiten und 6 cm hohen Schachteln mit Glasdeckel. Ausgabe II enthält dieselben Präparate in kleineren Schachteln, ebenfalls mit Glasdeckel. Ausgabe III enthält die Präparate in Herberform und Ausgabe IV reiht sich als Exsiccatenwerk, mehr wissenschaftlichen Charakters, den obigen, mehr praktischen Wert habenden Ausgaben an. Ausgabe I kostet 50 Kr., Ausgabe II 30 Kr., Ausgabe III 20 Kr. und Ausgabe IV 8 Kr.

Die bisher erschienenen Serien enthalten 75 pilzparasitäre Pflanzenkrankheiten in netter Ausstattung. 75 verschiedene parasitäre Pilze unserer Kulturpflanzen, die sozusagen alle wichtigeren Familien unserer parasitären Pilze vertreten. Da die Serien die

wichtigsten und häufigsten Pilzkrankheiten unserer Kulturpflanzen enthalten, so dürften diese Ausgaben sowohl Landwirten als auch Gärtnern und Pflanzenfreunden gute Dienste beim Studium der Pflanzenkrankheiten leisten, ferner dürften sie auch beim Unterricht sich bewähren.

Die Anschaffung der I. Ausgabe dürfte insbesondere Schulen angezeigt sein, da die Kassetten als nette und nützliche Wanddekoration verwendet werden können, andererseits können die Präparate beim naturwissenschaftlichen, insbesondere phytopathologischen Unterricht als unentbehrliches Demonstrationsobjekt dienen.

Die Präparate sind mit großer Sorgfalt ausgestattet und sind mit vielem Fleiß zusammengestellt. Den getrockneten Pflanzen sind einfach skizzierte Handzeichnungen als Illustration des mikroskopischen Bildes der betreffenden Pilze beigelegt.

Jedem Präparate ist ein kurzer Text über die entsprechende Pflanzenkrankheit und deren Abwehr in Handschrift (!) beigelegt.

B. Pater (Koložsvár).

Freeman, Eduard Monroe, The seed-fungus of *Lolium temulentum* L., the Darnel. (Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Ser. B. Vol. CXCVI. 1903. p. 1—27. Mit Taf. I—III.)

Den *Lolium*-Pilz fand Verf. nicht nur in *Lolium temulentum*, sondern auch in *Lolium arvense*, *perenne*, *italicum* und *linicolum*. Ehemals war der Pilz in Bezug auf den Wirt wohl ein Parasit, jetzt aber ist das Verhältnis ein symbiotisches geworden. Die Körner ohne den Pilz sind oft recht verkümmert. Bezüglich der systematischen Stellung weist Verf. auf die Ähnlichkeit des *Lolium*-Pilzes mit dem Mutterkorn (*Claviceps*) hin. Den Hauptinhalt der Arbeit machen Untersuchungen aus, die Bezug haben auf: 1) das Leben des Pilzes in der Pflanze, 2) die Infektion des Embryos und das Verhalten des Pilzes während der Keimung, 3) die Sporenbildung und 4) das Wachstum des Pilzes außerhalb des Wirtes. Die hauptsächlichsten Ergebnisse sind: Die Rispe der jungen Pflanze ist vielfach von Pilzhypen durchzogen, daher sind alle Fruchtknoten einer und derselbe Rispe infiziert. In der Samenknospe ist das Pilzmycel gleichmäßig verteilt. Ist der Embryosack aber ausgebildet, so findet man den Pilz nur an der Axialseite der Samenknospe in einer zungenförmigen Schicht bis zur Spitze des Embryosackes. Diese Region grenzt später an das Scutellum und Verf. nennt sie die „Infektionsschicht“. Von da erstrecken sich die Hypen durch die Gefäßbündel des Scutellums und des ersten Blattes bis zum Vegetationspunkte. In der reifen Frucht sieht man Pilzhypen nur in einer geschlossenen Schicht über den Aleuron führenden Zellen an der Außenseite der Frucht und am unteren Ende der Bauchfurche, wo die Aleuronschicht das untere Ende des Scutellums berührt. Hier kommt also der Pilz in direkte Berührung mit dem Embryo. Die Hypen außerhalb der „Infektionsschicht“ spielen bei der weiteren Entwicklung des Pilzes keine Rolle, sie gehen ein. In einer

17 Tage alten Pflanze ist der Pilz in einer Region verbreitet, die begrenzt ist durch die Vegetationsspitze und dem 1. Knoten über dem Scutellum; in der Wurzelanlage wurden keine Hyphen gesehen. Nur im Parenchym sind Hyphen nachweisbar; sie verlaufen intercellular und tragen keine Haustorien. — Pfropfversuche zeigten, daß Hyphen der Infektionsschicht von *Lolium temulentum* in den Embryo von *Lolium perenne* eindringen können und umgekehrt. Die Arbeit füllt Lücken aus, welche sich in den Arbeiten von Guérin, Vogel, Hanausek und Nestler vorfinden.

Matouschek (Reichenberg).

Hecke, Ludwig, Ueber das Auftreten von *Plasmopara cubensis* in Oesterreich. (Zeitschr. f. d. Landw. Versuchswesen in Oesterreich. 1904. p. 1.)

Zur Untersuchung gelangten kranke Gurkenblätter, welche von einem Pilz befallen waren, welcher bisher in Oesterreich nicht beobachtet worden war und auch in Deutschland noch nicht aufgetreten ist. Die Krankheit charakterisiert sich durch eckige, durch die Blattnerven begrenzte bleiche Flecke, welche sich vergrößern, an Zahl zunehmen und nach und nach gelb werden; die befallenen Blätter vertrocknen und fallen zum Schaden der Ernährung der Pflanze und der Fruchtbildung frühzeitig ab. Nach dem morphologischen Befunde obwaltete über die Identität des vorgefundenen Pilzes mit *Plasmopara cubensis* (Berk. et Curt.) Humphr. kein Zweifel. Der Pilz trat zuerst im Jahre 1868 in Cuba auf, wurde 1876 in der Mandschurei und im Jahre 1889 in Japan und in Nordamerika beobachtet, in welchem letzterem Lande er in den späteren Jahren wiederholt große Schäden anrichtete. In neuester Zeit scheint der Pilz auch in England aufgetreten zu sein, desgleichen ferner in Ungarn, doch liegen hier außer einer Angabe keine weiteren Erfahrungen vor. Da der Pilz in Amerika schon enormen Schaden angerichtet hat, so ist Vorsicht geboten. Er scheint als Nährpflanzen nur Cucurbitaceen zu benutzen und von diesen in erster Linie Gurke, Melone und Wassermelone, deren Kultur in Amerika zum Teil fast aufgegeben werden mußte. In geringerem Grade hatten Kürbisse von der Krankheit zu leiden. Die Krankheit tritt bei frühen und späten Gurken gleichmäßig auf, und zwar je nach der Witterung, Anfang August oder später, also unabhängig von dem Wachstumsstadium der Pflanzen. Zur Bekämpfung der Krankheit wurde in Amerika mit großem Erfolge das Spritzen mit Bordeauxbrühe durchgeführt und dadurch die Gurkenkultur in gewissen Gegenden wieder ermöglicht. Stewart verwendete hier eine Bordeauxbrühe, welche 1 Pfund Kupfervitriol und $\frac{2}{3}$ Pfund Kalk auf 8 Gallonen Wasser enthielt und entspricht dies ungefähr einer Brühe von 1,5 Proz. Gehalt an Kupfervitriol. Die Bespritzungen müssen nach Bedarf wiederholt werden und Stewart wiederholte sie alle 10 Tage, so daß im ganzen 7 Bespritzungen gegeben wurden. Die Zeit der Hauptgefahr fällt in den Hochsommer, so daß die Bespritzungen nicht früher als Mitte Juli vorgenommen werden brauchen. Bei der Gefährlichkeit des Pilzes

ist es ratsam, von Anbeginn der Krankheit die Bekämpfung auf das energischste vorzunehmen. Stift (Wien).

Schellenberg, D. H. C.; Der Blasenrost der Arve. (Naturwissenschaftl. Zeitschr. f. Land- u. Forstw. 1904. p. 233.)

Seinerzeitige Untersuchungen Tranzschels haben den Beweis erbracht, daß der Blasenrost der Arve in den Entwicklungskreis von *Cronartium Ribicola* gehört. In der Schweiz hat man bis jetzt den Blasenrost auf Arven nicht gefunden, während Fischer das zugehörige *Cronartium Ribicola* in der Innschlucht auf *Ribes petraeum* entdeckt hat. Es war nun das Auftreten des Blasenrostes in den dortigen Arvenwäldern für früher oder später zu erwarten. Verf. fand nun im Juli des vergangenen Jahres den Blasenrost auf der Arve im Engadin, und zwar dort, wo Fischer 1895 zuerst das *Cronartium Ribicola* auf *Ribes petraeum* aufgefunden hatte. Anfangs Oktober 1903 besuchte Verf. wieder denselben Standort und fand neben dem erkrankten Arvenast einen Strauch von *Ribes alpinum*, dessen Blätter sehr dicht mit dem *Cronartium Ribicola* übersät waren, und zwar in einer Weise, wie das in der Natur nur dort vorkommt, wenn der Wirt in unmittelbarer Nähe des Ortes der Sporenproduktion sich vorfindet. Weitere Beobachtungen haben gelehrt, daß der Pilz schon längere Zeit im schweizerischen Alpengebiete vorhanden ist. Seine beiden Wirtspflanzen sind echte alpine Vertreter, sowohl die Arve als auch *Ribes alpinum* und *petraeum*, und diese Tatsachen sprechen dafür, daß der Pilz nicht eingeschleppt worden ist, sondern in den Arvenwäldern, ursprünglich auch in den Alpen, zu Hause ist. Nachdem nun festgestellt wurde, daß der Blasenrost auf der Arve in den Alpen mit einem *Cronartium*, das sich auf *Ribes alpinum* und *petraeum* vorfindet, im Wirtwechsel steht, entstand die weitere Frage, ob dasselbe *Cronartium* auf *Pinus Strobus* den Blasenrost verursacht. Obwohl nun ein durchgeführter Infektionsversuch ein negatives Resultat ergeben hat, so will Verf. dem kein großes Gewicht beilegen, nachdem wahrscheinlich infolge von Nebenumständen die Infektion verhindert worden ist.

Weitere Untersuchungen haben gelehrt, daß der Pilz auf der Arve in anatomischer Beziehung mit dem *Peridermium Strobi* Klebahn übereinstimmt; er hat die gleichen Zwischenwirte, die auch vom *Peridermium Strobi* befallen werden, und diese Uredo- und Teleutosporen auf *Ribes alpinum* und *petraeum* stimmen mit den Uredo- und Teleutosporen, die nachweislich durch Infektion von dem Blasenrost der Weymouthskiefer entstanden sind, überein. Verf. hält deswegen das *Peridermium* auf der Arve identisch mit dem *Peridermium Strobi* Klebahn, trotzdem daß eine Infektion der Weymouthskiefer von Material, daß durch Infektion von der Arve erzeugt worden ist, noch nicht ausgeführt wurde.

In Bezug auf die Frage der Infektionsgefahr scheint sich der Pilz nicht besonders in den Arvenbeständen auszubreiten; es ist, als ob diese Pflanze während der langen Periode des Zusammen-

lebens mit dem Pilze gegen diesen Feind eine gewisse Widerstandsfähigkeit erworben hat. Stift (Wien).

Guttman, A., Praktische Erfahrungen über das Auftreten des Wurzelbrandes der Rüben. (Deutsche Landwirtschaftl. Presse. 1904. p. 64.)

Der Wurzelbrand wird nach der Ansicht des Verf. zweifellos durch den Pilz *Phoma Betae* verursacht und ist jeder Samen mit diesem Pilz behaftet; es kommt nur darauf an, ob die Verhältnisse so liegen, daß die kleinen Rübenpflanzen die Kraft haben, ihres Feindes Herr zu werden oder ob die Verhältnisse der Ausbreitung des Wurzelbrandes günstig sind. Bei der Ausbreitung des Wurzelbrandes kommen folgende Faktoren in Betracht: Witterung, Beschaffenheit des Bodens, Kraft- und Kulturzustand des Bodens und Beschaffenheit des Rübensamens resp. dessen Akklimatisierung. Bei ungünstiger, rauher und kalter Witterung tritt eine Wachstumsstockung der jungen Pflänzchen ein, der Pilz überwuchert dieselben und der Wurzelbrand tritt in schönster Form auf. Je mehr sich ein Feld in besserem Düngungszustand befindet, um so leichter widersteht die Pflanze den ungünstigen Witterungseinflüssen, erholt sich rascher und stößt durch rasches Wachstum in kurzer Zeit die Krankheit ab. Auf solchen Böden, wo erfahrungsgemäß leicht Wurzelbrand auftritt, darf man nicht zu früh säen, sondern muß warten, bis der Boden sich genügend erwärmt hat. Nach den Erfahrungen des Verf. sind die Bekämpfungsmittel gegen den Wurzelbrand die folgenden: Rasches Versetzen des Bodens in guten Kulturzustand durch Walzen und Hacken, damit der Pilz nicht Herr der kleinen Rübenpflanzen werden kann, Düngung mit Superphosphat und Chilisalpeter zur Kräftigung der Pflanze durch reiche Bodennahrung. Ein drittes Mittel wäre noch ein Beizen der Samen mit 1- und 2-proz. Karbolsäurelösung und mit 1- und 2-proz. Kupfervitriollösung. Von diesem Mittel hält Verf. nichts. Stift (Wien).

Möller, A., Die wahre Ursache der angeblich durch elektrische Ausgleichungen hervorgerufenen Gipfeldürre der Fichten. II. (Sonderabdr. a. d. Zeitschr. f. Forst- u. Jagdwesen. 1904. Heft 8. p. 481—491.)

v. Tubeuf hatte in Oberbayern an Nadelhölzern, vornehmlich an Fichten, ein zahlreiches Vorkommen von Gipfeldürre beobachtet und bekanntlich elektrische Ausgleichungen als Ursache dieser Absterbungserscheinungen hingestellt. Die Ausführungen Tubeufs waren geeignet, den Eindruck zu erwecken, daß seine Erklärung in der Tat die richtige sei (vergl. mein Referat in der Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1904. p. 220). Möller wendet sich nun mit aller Entschiedenheit gegen die Tubeufsche Behauptung. Er hat in der Mark eine Gipfeldürre an Fichten beobachtet, die seiner Ansicht nach nicht nur in ihrer äußeren Erscheinung, sondern auch bezüglich ihrer Ursache mit der von Tubeuf beobachteten Gipfel-

dürre identisch ist. Um seine Ansicht zu bekräftigen, reproduziert Möller einige Tubeuf'sche Abbildungen von gipfeldürren Fichten, sowie von Stammquerschnitten mit „Blitzspuren“ und bildet daneben ganz analoges Material aus der Mark ab. Für die Ursache des Gipfelsterbens hält Möller die Raupen der *Grapholitha pactolana*, deren Fraßgänge in der Rinde unterhalb der dürrn Gipfel zu finden waren. Die Ansicht, daß die *Grapholitha pactolana* nur an jüngeren oder niederen Fichten vorkomme, sei nicht richtig. Abnormitäten im Rindengewebe, die den „Blitzspuren“ gleichen, fand Möller auch an Fichten, deren Gipfel durch den genannten Schädling zum Absterben gebracht waren, sowie auch an anderweitig beschädigten Bäumen. Die Experimente Tubeuf's, künstlich Blitzspuren zu erzeugen, hält Möller deshalb für nicht beweisend, weil Tubeuf hochgespannte Wechselströme verwandte, in der Natur die Wipfeldürre aber durch dem St. Elmsfeuer vergleichbare stille Entladungen hervorgerufen werden solle. Meines Erachtens sind leider weder die Tubeuf'schen noch die Möllerschen Darlegungen so beschaffen, daß sie den Leser, der nicht selber die in Frage stehenden Beschädigungen zu sehen und genau zu untersuchen Gelegenheit gehabt hat, fest davon zu überzeugen vermögen, daß die Tubeuf'sche Behauptung wirklich richtig ist oder falsch. Schade, daß weder in der Tubeuf'schen noch in der Möllerschen Arbeit eine genaue mikroskopisch-anatomische Abbildung und detaillierte Beschreibung der merkwürdigen „Blitzspuren“ enthalten ist.

Laubert (Berlin).

Baccarini, P., Sul *Ceratostoma Juniperinum* Ell. et Ever. (Nuovo Giornale Botanico. (2). Vol. XI. 1904. p. 49—52.)

Cavara beobachtete (1898) eigentümliche Auftreibungen der Stengeloberfläche von *Juniperus phoenicea* auf dem Monte Circeo und von *Cupressus sempervirens* bei Florenz. Er schrieb die Entstehung dieser krebsartigen Geschwülste zwei Schizomyceten zu, die er aus dem zerrissenen, äußeren Teile derselben isolieren konnte. Außerdem war ihm nicht entgangen, daß dabei der seltene Pilz *Ceratostoma juniperinum* oft auftritt. Verf. zeigt nun, daß dieser Pilz auch auf *Juniperus communis* vorkommt, und zwar bewohnt sein Mycel regelmäßig die jüngsten Geschwülste, welche kein Bakterium bei aseptischer Probeentnahme liefern. Näheres wird nicht mitgeteilt. Pantanelli (Modena).

v. Tubeuf, Die Blattfleckenkrankheit der Kartoffel (Early blight oder Leaf-spot-disease) in Amerika. (Naturwissensch. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. II. 1904. p. 264—269.)

Der Beginn der durch *Macrosporium Solani* Ell. et Mart. hervorgerufenen „Early blight“-Krankheit zeigt sich kurz nach der Blütezeit und äußert sich auf den Blättern der Frühkartoffeln im Auftreten regellos zerstreuter brauner Flecken, die sich gern an die vom Fraße der Erdflöhe herrührenden Löcher anschließen. Charakteristisch sind die in den abgestorbenen Blattteilen infolge

Einschrumpfens der Gewebe dann entstehenden konzentrischen Ringe. Auf Grund von Reinkulturen zieht Vanha das von Frank gefundene *Cladosporium* und den von Schenk als *Sporidesmium exitiosum* var. *Solani* bezeichneten Pilz, welche beide neben *Macrosporium Solani* Ell. et Mart. = *Alternaria Solani* Sorauer auf den braunen Blattflecken auftreten, zusammen. Für die Berechtigung dieses Vorgehens sind detailliertere Angaben erwünscht. Beck (Tharandt).

Oudemans, C. A. J. A. and Koning, C. J., On a *Sclerotinia* hitherto unknown and injurious of the cultivation of Tobacco (*Sclerotinia Nicotianae* Oud. et Kon.). (Kon. Akademie van Wetenschappen te Amsterdam. 1903. p. 48—58 u. 85—86. Mit 2 Taf.)

Eine sehr genau beschriebene neue *Sclerotinia*-Art auf Tabak. Die Sklerotien sind schwärzlich, 10 mm lang und 5 mm breit und treten auf Blättern und Stengeln des Tabaks auf. Die Kultur ergab schüsselförmige, 4—6 cm lang gestielte, an der Oberfläche flockig-schuppige und bräunliche Fruchtkörper.

Matouschek (Reichenberg).

Goethe, Rudolf, Ueber den Krebs der Obstbäume. 34 p. Berlin (P. Parey) 1904.

Als Erweiterung des vom Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold und dem Verf. im Flugblatt No. 17 des Kais. Gesundheitsamtes über den Krebs der Obstbäume und seine Behandlung Gesagten erläutert Verf. an der Hand von Illustrationen Wesen und Entstehung des von *Nectria ditissima* Tul. hervorgerufenen offenen (brandigen) und geschlossenen (knolligen) Krebses und weist darauf hin, daß die Weiterentwicklung der ursprünglichen Pilzkrebswunde zur offenen oder geschlossenen Form nicht nur von der Größe der abgetöteten Rindenpartie und von der Ueberwallungsenergie des befallenen Baumes abhängt, sondern auch von der Apfelsorte beeinflusst wird. Es gibt Sorten (Dunch- oder Weißapfel, Zwiebelapfel), zu deren Eigentümlichkeit es gehört, vorwiegend geschlossene Krebswunden zu bilden. Mit dem Opfer mehr oder weniger knollig werdender Wundstellen siegt hier der Baum schließlich über den Parasiten. An anderen Sorten (weißer Winterkalvill, roter Herbstkalvill u. a.) bleiben die Krebswunden offen und führen deshalb in kürzerer oder längerer Zeit zum Absterben des überstehenden Trieb-, Zweig- oder Astteiles. Bei sehr vielen Sorten finden sich offene und geschlossene Krebse in allen möglichen Abstufungen auf ein- und demselben Baume, Aste oder Zweige, eine Tatsache, die für Zusammengehörigkeit und gemeinsame Entstehungsursache beider Krebsformen spricht. Die Empfänglichkeit der verschiedenen Obst-, speziell Apfelsorten für den Krebsbefall ist verschieden groß, so daß man von krebssüchtigen und krebsfreien Sorten sprechen kann. Verf. stellt eine große Anzahl bekannter Apfelsorten nach diesen Gesichtspunkten zusammen. Die vom Pilze verschont bleibenden Sorten sind sehr in der Minderzahl.

Außerdem lehrt die Erfahrung, daß eine als krebsfrei angesehene Sorte unter für den Parasiten günstigen Umständen doch krebsig wird, während anerkannt krebssüchtige Sorten in Verhältnissen, die der Entwicklung der *Nectria* nicht günstig sind, den Krebs entweder nur in schwächerem Grade oder gar nicht bekommen. Aus fremden Ländern eingeführte Sorten leiden stärker durch Krebs als Lokalsorten. Außerdem wird die Neigung zum Krebsbefall bei allen Sorten durch eine Reihe äußerer Umstände bedingt. Krebsfördernd wirken rauhes Klima, höherer Feuchtigkeitsgehalt der Luft, Mangel an Licht und Wärme, Wasserüberfluß im Boden, hoher Grundwasserstand, andererseits anhaltender Wassermangel im Boden, Trockenheit, Bodenarmut, Fehlen eines wichtigen Nährstoffes bezw. Vorherrschen eines solchen, alle durch menschliche Nachlässigkeit und Unachtsamkeit, Naturereignisse oder Insekten veranlaßten Verletzungen und Mißstände (zu tiefes Pflanzen, Baumbänder, Schnittwunden, Hagelschlag, Wind- und Sturm-schaden etc.).

Bezüglich der Zeit der Infektion fand Verf. die bereits früher festgestellte Tatsache von neuem bestätigt, daß der Pilz unter Umständen bereits die grünen Sommertriebe befällt und giebt im Anschluß hieran eine Darstellung der Entstehung des Spitzkrebsses, weil dieser durch das Auftreten des Krebses an den jüngst gebildeten Trieben bedingt wird. Für die Anschauung Brzezinskis, daß *Nectria ditissima* nur Saprophyt, der wirkliche Erzeuger des Krebses aber ein Bakterium sei, verlangt Goethe zunächst Nachprüfungen und weist gegenüber der Ansicht Sorauers, daß der Frost die wahre Ursache des Krebses sei, darauf hin, daß mit einer Frostwunde niemals eine Verdickung und Anschwellung des beschädigten Zweigtheiles verbunden ist, wie solche zu den charakteristischen Eigentümlichkeiten der echten Krebswunde gehört. Verletzungen, die vielfach mit dem echten Krebse verwechselt werden, in ihn auch tatsächlich übergehen können, wenn sich *Nectria* darin ansiedelt, erzeugen *Schizoneura lanigera* H., *Grapholitha Woeberiana* W. V., *Sesia myopaeformis* Bkh., *Magdalinus Pruni* L., *Agriolus sinuatus*, Schildläuse. Ob zwischen den häufig mit *Nectria* zusammen vorkommenden beiden Fusicladien (*F. dendriticum* und *pyrinum*) und dem Krebse irgendwelche Beziehungen vorhanden sind, bedarf noch genauerer Untersuchung.

Als Vorbeugungs- und Bekämpfungsmaßregel empfiehlt G. Vorsicht in der Wahl der Obstsorten, Drainage wasserreicher, schwerer und kalter Böden vor dem Obstanbau, Vermeidung baummüde gewordener Stellen, der unmittelbaren Nähe von Buchenbeständen und von zu tiefem Pflanzen, Sorge für ausgiebige und richtig zusammengesetzte Ernährung, Ausschneiden bezw. Ausmeißeln offener Krebswunden und der Krebsknollen, Desinfektion aller hierdurch entstehenden Rindenverletzungen etc. durch Ueberstreichen mit dünnflüssig gemachtem Steinkohlenteer oder 100-proz. Kupfervitriollösung und schnelles Verstreichen aller sonstigen Wunden.

Beck (Tharandt).

Iwanoff, K. S., Ueber *Trichothecium roseum* Link als Ursache der Bitterfäule von Früchten. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1904. p. 36—40.)

An von Bitterfäule befallenen und teilweise mit kleinen, ca. 1 mm großen, stumpfkönischen Höckerchen besetzten Pflaumen (*Prunus domestica*) entwickelte sich in der feuchten Kammer eine zunächst weißliche, später rosenrote, den Konidienzustand von *Trichothecium roseum* darstellende Schimmelvegetation. Uebereinstimmend damit erwies sich das vom Verf. an verdorbenen, bitteren Nüssen von *Corylus Avellana* und *Pinus Cembra* häufig beobachtete *Trichothecium*. Bei künstlichen Infektionen halbiertes und ganzer frischer Äpfel und Birnen mit dem im Pflaumendekokt vortrefflich gedeihenden Pilze zeigten sich nach 5—6 Tagen die Konidienhäufchen und das Fruchtparenchym ging von den Infektionsstellen aus durch den Einfluß des intercellular wachsenden Mycel unter Schrumpfung und Bräunung des Zellinhaltes in Bitterfäule über. Besonders stark wurden die Birnen angegriffen; fast die ganze Frucht bräunte sich und nahm stark bitteren Geschmack an. Äpfel erwiesen sich widerstandsfähiger. Die Bitterfäule der letzteren scheint nach den neueren Mitteilungen mehr auf die morphologisch nahestehende Pilzgattung *Cephalothecium roseum* Corda zurückzuführen zu sein.

Der in den braunen Stellen des Fruchtparenchyms lokalisierte, mit dem Alter der Kulturen zunehmende Bitterstoff der *Trichothecium*-Fäule läßt sich mit 90-proz. Alkohol gut extrahieren und liefert im filtrierten, vorsichtig abgedampften Alkoholauszug einen gelblichen, durchsichtigen, bitter schmeckenden Sirup. Seine Bildung, deren Bedingungen zu erforschen Verf. als Aufgabe weiterer Experimente ansieht, steht möglicherweise mit dem Gehalt an organischen Säuren und deren Salzen im Zusammenhang.

Beck (Tharandt).

Vanselow, Karl, Polyporus-Schaden an Zwetschenbäumen. (Naturwiss. Zeitschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. 1904. p. 216—218.)

An den Pflaumenbäumen Unterfrankens tritt *Polyporus fulvus* in sehr ausgedehntem Maße auf und mindert die Widerstandsfähigkeit der befallenen Bäumen derart, daß in der Umgebung von Würzburg infolge eines heftigen Sturmes im September 1903 25—30 Proz. des Bestandes an Pflaumenbäumen gebrochen oder beschädigt wurden. Baldiges Ausschneiden der sich bildenden Fruchtkörper und Teeranstrich aller bei der Baumpflege oder durch Elementareinwirkungen (Sturm, Schnee) entstehenden Stamm- und Astwunden empfehlen sich als Gegenmaßnahmen.

Beck (Tharandt).

Stebbing, E. P., Departmental notes on insects that affect forestry. No. 1—2. IV, VIII u. 334 p. 8°. 19 Taf. Calcutta 1903.

Der indische Regierungsentomologe für Forstwesen, E. P. Stebbing, gibt im vorliegenden Werke eine Zusammenfassung der bis heute erlangten Kunde von den schädlichen Forstinsekten des indischen Kaiserreichs¹⁾, die zum weitaus größten Teile auf seinen eigenen Forschungen beruht. Obwohl das Buch hauptsächlich dem Forstschutze Unterlagen und Hinweise geben soll, was durch praktische Gliederung des Stoffes gefördert wird, ist es auch vom zoologischen Standpunkte aus an sich eine schätzenswerte Bereicherung der Literatur, da es eine Fülle biologischer Angaben über Kerbtiere des Himalayagebiets und des tropischen Indien bietet, deren Lebensweise viele Anklänge an das hier Gewohnte, aber auch manche interessante Abweichungen erkennen läßt.

Der Bedeutung gewisser Baumarten als Nutzhölzer entsprechend, ist deren besonderen Schädlingen die meiste Aufmerksamkeit geschenkt worden; es sind die Koniferen Deodarzeder (*Cedrus deodara* Lond.), Fichte (*Picea morinda* Link), Blaukiefer (*Pinus excelsa* Wall.), und die Laubhölzer: Sissu (*Dalbergia sissoo* Roxb.), Säl (*Shorea robusta* Grtn.) und Teakbaum (*Tectona grandis* L.); auch der Bambus (*Dentrocalamus strictus* L.) wird hier und da stark heimgesucht. Während die Käferfamilie der Holzbohrer (*Bostrychidae*) in Europa nur gewissen südlichen Baumarten, z. B. dem Oelbaume, einigen Schaden zufügt, sind 6 Arten ausführlich behandelt, die ausgedehnte Zerstörungen an gefällttem, noch saftigem Nutzholze hervorrufen, auch die Dachbalken in den Bungalows vielfach morsch machen. Von dem Dutzend Borkenkäferarten, die sich bis jetzt in den Forsten Indiens bemerklich machten, hausen mehrere *Scolytus* entgegen der Gewohnheit ihrer westlichen Gattungsgenossen im Nadelbaume, nämlich in der Deodarzeder. Raupenschäden äußern sich bis jetzt nur in der bestandweisen Entblätterung von Laubbäumen, während der gefährliche Nadelfraß nur unbedeutend zur Geltung kommt; die Erdraupe (*Agrotis ypsilon*) schadet den Pflanzungen der Ceder ähnlich wie unsere Saateule den Kiefern. Von den Hemipteren machten sich je eine Schild- und Randwanze sehr lästig, während die Schildlaus *Monophlebus Stebbingi* Green die Sälwälder mit Vernichtung bedrohen würde, wenn nicht eine Coccinellide ihre ungeheure Vermehrung wirksam in Schranken hielte.

Die bildliche Ausstattung des Werkes mit Tafeln in Photo-gravure ist umfassend und belehrend, wenschon man die ausschließlich zur Unterlage benutzte Handzeichnung der Naturtreue halber für Fraßbilder etc. lieber durch photographische Aufnahmen ersetzt sehen möchte.

Jacobi (Tharandt).

Laubert, B., Eine auffallende Mißbildung der Getreide-halme. (Illustr. landw. Ztg. Jahrg. XXIV. 1904. No. 47. p. 886—887.)

Verf. bespricht in allgemeinverständlicher Weise eine in diesem

1) Wozu Ceylon administrativ nicht gehört!

Sommer zahlreiche beobachtete eigentümliche Mißbildung der Weizenhalme, die darin besteht, daß das oberste Internodium in seinem unteren Teile eine halbkreisförmige Krümmung macht, so daß die Aehre, wie die beigegefügte Abbildung zeigt, senkrecht abwärts hängt. Die Erscheinung ist auf eine Beschädigung durch Läuse bzw. Thrips zurückzuführen. Recht bemerkenswert sind die anatomischen Veränderungen in der gekrümmten Region des Halmes: die Membranen des ganzen Grundgewebes und sogar des Assimilationsparenchyms sind hier nämlich stark verdickt und verholzt.

Autoreferat.

Fuchs, G., Etwas über primäre Borkenkäferangriffe. (Nat. Ztschr. f. Land- u. Forstw. Jahrg. II. 1904. p. 193—198.)

Unter Anerkennung der Regel, daß die Borkenkäferangriffe normalerweise sekundär erfolgen, beschreibt Verf. mehrere von ihm beobachtete Fälle primären Befalles nebst Angabe der Umstände, die letzteren zu erklären geeignet erscheinen. Der Schauplatz war das Gebiet der Saualpe in Kärnten, dessen Waldungen im Winter 1902 durch Weststürme großenteils verwüstet worden waren. Dort fand sich zunächst eine Föhre von *Ips sexdentatus* Boern. getötet; in diesem Falle ließ sich annehmen, daß der völlig gesunde Baum infolge sehr sonniger Lage, dauernd warmer Witterung während der Flugzeit des Käfers und Freistellung durch Windbruch seiner Nachbarn den Schwärmen der Borkenkäfer als passende Brutgelegenheit erschien. Nachdem der Angriff von *I. sexdentatus* im mittleren Stammteile erfolgreich gewesen war, siedelten sich sekundär in den oberen Stammpartieen und in der Krone *I. typographus* L., *amitinus* Eichh., *acuminatus* Gyll. und nochmals *sexdentatus* an. — Weiter kam eine starke, vom Buchdrucker getötete Fichte in Betracht; hier war der Anlaß neben freiem Stande in einer ganz lokalen starken Vermehrung dieser Art in unentzündet gebliebenem Fichtenabraume in unmittelbarer Nachbarschaft zu suchen. — Die dritte Beobachtung endlich wurde an einer Anzahl Fichten eines aus Tannen und Fichten gemischten, etwa 120-jährigen Bestandes gemacht; die Objekte waren gesund und durch keinerlei bemerkbare Beschädigung geschwächt gewesen, nirgends in der Nähe gab es stehendes oder liegendes Holz mit Borkenkäferbrut, somit blieb als Erklärung nur übrig, daß ein Schwarm, vom Winde verschlagen, jenes abgegrenzte Stück Waldrand angefliegen hatte. — Aus jenen Wahrnehmungen folgert Verf., daß lokale kleine Massenvermehrungen gelegentlich überall durch Zusammentreffen besonders günstiger Umstände hervorgerufen werden können, und daß man vor gewissen Arten auf der Hut sein muß, auch wenn sie gewöhnlich sekundär auftreten.

Jacobi (Tharandt).

Enderlein, G., Ein neuer Copeognathentypus, zugleich ein neuer deutscher Wohnungsschädling. (Zoolog. Anz. Bd. XXVII. 1903. p. 76.)

Enderlein, G., *Nymphopsocus destructor* Enderl. 1903, ein neuer Copeognathentypus, zugleich ein neuer deutscher Wohnungsschädling. (Zoolog. Jahrb. Abteil. f. System., Geographie u. Biol. d. Tiere. Bd. XIX. 1903. p. 727—732. Taf. 43.)

Die früher als Psociden bekannte, von Enderlein aus systematisch-nomenklatorischen Rücksichten in Copeognathen umgetaufte Familie der „Holzläuse“ wird um eine eigentümlich isoliert stehende Gattung vermehrt; diese besitzt einen sehr starken Nymphencharakter, der hauptsächlich durch die rudimentären, nach Nymphenart getragenen Flügel hervorgerufen wird. Zur Subfamilie *Psyllipsocinae* gehörig, scheint *Nymphopsocus* am nächsten mit der Gattung *Psyllipsocus* S.-L. verwandt zu sein. Die Körperlänge der typischen Art *N. destructor* beträgt bei ausgestrecktem Kopfe 2 mm. Die Nymphe unterscheidet sich von der Imago nur durch die blassere Färbung, die Aderlosigkeit der dicken, nicht wie bei der letzteren häutigen Flügel, das Fehlen der Ocellen und die Anwesenheit von nur 2 Tarsengliedern. — Der neue Copeognath trat im August 1903 in einer Wohnung in Charlottenburg in großen Mengen als sehr schädliches Insekt auf, das nicht nur die Stoffe, sondern ganz besonders das Holz der Möbel zerfressen und Gänge darin anlegen soll; auch aus Offenbach a. M. kam später dieselbe Angabe.

Verf. läßt die Frage offen, ob die Form ursprünglich einheimisch oder etwa durch ausländische Fournierhölzer eingeschleppt worden ist.
Jacobi (Tharandt).

Enderlein, G., *Pthirocoris*, eine neue zu den *Henicocephaliden* gehörige *Rhynchotengattung* von den Crozetinseln und *Sphigmocephalus* nov. gen. 5. Beitrag zur Kenntnis antarktischer Landarthropoden. (Zoolog. Anz. Bd. XXVII. 1904. p. 783—788. 5 Fig.)

Die eigenartige Wanzenfamilie der *Henicocephalidae* dürfte — obwohl über ihre Lebensweise nichts weiter bekannt ist, als daß ihre Vertreter im Sonnenschein umherfliegen¹⁾ — eine ektoparasitische Ernährung haben, nämlich aus dem Bau der Vorderbeine zu schließen. Deren eingliedriger Tarsus ist stark verkürzt, zugleich sind alle übrigen Beinglieder kurz, gedrunken und sehr kräftig, weshalb diese Extremität kaum als Raub-, sondern als Klammerfuß, wie bei den Läusen, anzusehen ist. Die Vermutung, daß diese Heteropteren ähnlich wie geflügelte Pupipare an Warmblütern schmarotzen, gewinnt noch durch die Behaarung der Tibien, zumal der vorderen, mit eigenartigen feinen, fiederartigen Borstenkämmen an Wahrscheinlichkeit, und der Schmarotzertypus ist bei der von E. neu beschriebenen Gattung *Pthirocoris* noch mehr ausgeprägt. Ihre Augen sind nicht

1) Die Notiz von Mally (Zoologist [4]. Vol. VII. 1903. p. 466) scheint dem Verf. entgangen zu sein.

abstehend, mit nur 4 einzelnen Ommatidien, um die wenige Pigmentkugeln gelagert sind. Ocellen fehlen völlig. Vorderbeine mit sehr kurzen, gedrungenen und dicken Gliedern. Der Tarsus aller Beine eingliedrig, der der Vorderbeine sehr kurz, vorn unter den Klauen mit einem dicken, kräftigen Sinneskolben, die oberen der beiden (wenig gekrümmten) Klauen etwas kürzer als die unteren. Am Ende der Tibien ein Kamm aus einer Reihe dicht gestellter langer Borsten. Flügel fehlen völlig, sind auch bei der Larve nicht angelegt. — Die typische Art, *Pth. antarcticus* n. sp., stammt von den Crozetinseln, wo sie gegebenenfalls auf Seevögeln schmarotzen würde.
Jacobi (Tharandt).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Lindau, G., Hilfsbuch für das Sammeln und Präparieren der niederen Kryptogamen mit besonderer Berücksichtigung der Verhältnisse in den Tropen. Berlin (Gebr. Borntraeger) 1904.

Dieses dritte Hilfsbuch für das Sammeln kryptogamischer Gewächse (seine beiden Vorgänger waren Zusammenstellungen über die Substrate parasitischer Pilze und dann der Ascomyceten Deutschlands und seiner Nachbarländer) zeigt in der Ausstattung wieder das für solche „Führer“ notwendige dauerhafte Gewand, das den beiden ersten Hilfsbüchern schon vortrefflich zu statten kam. Dieses neue Büchlein, das vor allem den in den Tropen niedere Pflanzen sammelnden botanischen Laien zu belehren trachtet, wird auch bei uns selbst von Kundigeren sicherlich mit Erfolg benutzt werden können, denn es bringt in einfacher und geschickter Darstellung alles Wissenswerte aus dem Schatze von Erfahrungen, die der Verf. in seiner ausgedehnten Herbar- und Konserviertätigkeit auf verschiedenen kryptogamischen Gebieten an Deutschlands größtem botanischen Museum zu sammeln Gelegenheit hatte. Auch durch die Organisation kryptogamischer Exkursionen, die durch die Teilnahme von Spezialisten auf den verschiedenen Gebieten besonders anregend wurden, hat der Verf. bereits seit langem in ähnlicher Richtung gewirkt.

Nach mancherlei „allgemeinen Vorschriften“ über das Sammeln, Präparieren, Etikettieren und die Aufbewahrung im Herbar werden in einem größeren speziellen Teile die Abteilungen niederer Kryptogamen einzeln durchgegangen, ihre hauptsächlichen Fundorte und die beste Art ihrer Konservierung für wissenschaftliche Zwecke dargelegt. Dabei werden heimische und tropische Verhältnisse immer im Hinblick auf weniger erfahrene Sammler vergleichend

erörtert. Es besteht kein Zweifel, daß dieses kleine Werk auch den Laien vor dem gewöhnlich bisher unkritischen Sammeln des grob Sinnenfälligen unter Vernachlässigung der wichtigeren, versteckter lebenden Formen bewahren wird. Hoffen wir, daß auch dieses dritte Hilfsbuch seine wichtigen, sammlungsorganisatorischen Zwecke erfüllen möge, besonders die Förderung tropischer Kryptogamensystematik und -geographie. Bitter (Münster i. W.).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Dauphin, Influence des rayons du radium sur le développement et la croissance des champignons inférieurs. (Comptes rendus de l'académie des sciences. T. CXXXVIII. p. 154.)

Dem Verf. war von Curie eine Röhre mit Radium zur Verfügung gestellt worden.

Vorläufige Versuche mit Kulturen von *Mortierella*, *Mucor*, *Piptothecaphalis* und *Thamnidium* zeigten deutlich eine Beeinflussung der Kulturen durch das Radium, die verschiedener Art sein konnte, je nach der Dauer der Einwirkung der Becquerelstrahlen. Der Einfluß des Radiums auf frisch ausgesäte Sporen hatte Verzögerung der Entwicklung, der Einfluß auf schon vorhandenes Mycel Wachstumshemmung zur Folge. Alles das war um so deutlicher zu beobachten, je näher dem Radium die Sporen oder das Mycel sich befanden. Verf. hat nun mit einer Art der Gattung *Mortierella* eingehende Versuche ausgeführt. Chlamydosporen von *Mortierella* wurden sorgfältig in Bouillongelatine verteilt und jedesmal 2 Petri-Schalen gegossen. In die Mitte der einen kam die radiumhaltige Röhre, in die Mitte der anderen ein leeres Glasrohr derselben Form. Während in der Kontrollschale normale Entwicklung sich einstellte, zeigte sich in der der Wirkung des Radiums ausgesetzten Kultur von Anfang an deutlich um die Röhre mit Radium herum eine sterile Zone. Die Begrenzungslinie der Zone war deutlich ausgeprägt und besaß die Form einer Ellipse, deren große Achse in der Längsrichtung der Röhre lag. An den Enden der Röhre ist die Ellipse nach innen eingebuchtet. Verf. schließt aus dieser eigentümlichen Form, daß das Radium für seine eigenen Strahlen einen Absorptionsschirm bildet, so daß die Sporen, die innerhalb dieses Gebietes liegen, den aktiven Strahlen weniger ausgesetzt sind. Von der sterilen Zone aus wird das Wachstum nach den Rändern zu immer ungehemmter, trotzdem erscheint die ganze Entwicklung auf dieser Platte der Kontrollkultur gegenüber

sehr reduziert. Die mikroskopische Untersuchung ergab die völlige Abwesenheit von Sporangien und glatten Sporen. Es zeigten sich nur verkümmerte Chlamydosporen. Um zu entscheiden, ob die Keime in der sterilen Zone völlig abgetötet seien, wurden Stücke des Nährbodens aus dieser Zone auf Bouillongelatine übertragen. Es zeigte sich starke Entwicklungshemmung, erst nach 4 Tagen begann das Wachstum, aber allmählich wurde die ganze Oberfläche des Nährmediums überwuchert. Die Keime in der sterilen Zone befinden sich also im Zustand des latenten Lebens. — Die Einwirkung des Radiums auf schon entwickeltes Mycel beobachtete Verf. in van Tieghemschen Zellen. Im Gegensatz zu den Kontrollkulturen zeigten die dem Radium ausgesetzten Pilze kein Oberflächenwachstum mehr. Die Mycelfäden verdickten sich auf das 2—3-fache des Normalen, an einzelnen Stellen entstanden charakteristische Anschwellungen, innerhalb welcher das Protoplasma sich zusammenzieht, ja zuweilen schlossen sich die Mycelschläuche sogar. Offenbar handelt es sich hier um die Bildung von Verteidigungsorganen. Wird das Radium entfernt, so beginnt aufs neue normales Wachstum einzutreten. Koeppe (Hannover).

Kindshoven, J., Bespritzungsversuche bei Obstbäumen mit Kupferkalk- und mit Kupfersodabrühe. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. 1904. p. 53—54.)

Als Beispiel für den Wert des Bespritzens der Obstbäume zur Unterdrückung der durch *Fusicladium* hervorgerufenen Schorfkrankheit berichtet Verf. über einen Versuch, bei welchem Birnbäume (grüne Sommermagdalene) im Mai mit 1-proz. und im Juni mit $\frac{1}{2}$ -proz. Kupferkalkbrühe, also zweimal bespritzt wurden. Sie lieferten fleckenreine Früchte zu 20 M. Verkaufspreis für 1 Zentner, während die nichtbespritzten Vergleichsbäume weniger und fleckige Früchte zu 11 M. für 1 Zentner ergaben. Richtige Herstellung der Brühe, rechtzeitige vorbeugende Bespritzung auch in Fehljahren, feine Verteilung der Spritzflüssigkeit an geeigneten Tagen sind zu beachten. Kupfersodabrühe wirkte bei vergleichenden Versuchen genau wie Kupferkalkbrühe. Beck (Tharandt).

Freckmann, W., Entwicklung und Bekämpfung des Klee Krebses (*Sclerotinia trifoliorum*). (Deutsche landw. Presse. 1904. No. 51. p. 452—454.)

Nach allgemein verständlich gehaltener Schilderung des durch den Klee Krebs hervorgerufenen Krankheitsbildes, des Krankheitsverlaufes, der systematischen Stellung, Morphologie und Biologie des Pilzes bespricht Verf. die Wirtspflanzen und erwähnt als solche *Trifolium pratense*, *incarnatum*, *hybridum*, *pannonicum*, *Onobrychis sativa*, *Medicago sativa*, *Anthyllis vulneraria* und *Lupinus perennis*. Im Gegensatz zu den in Frankreich gemachten Erfahrungen scheint bei *Onobrychis* ebenso wie bei *Medicago* eine Uebertragung der Krankheit in

größerem Maße unwahrscheinlich, wenn sie auch experimentell ohne besondere Schwierigkeiten möglich ist. Die bisherigen Beobachtungen, nach welchen heftigeren Schädigungen durch Kleekrebs nur einjährige Pflanzen unterworfen sein sollen, erweitert Verf. durch den Hinweis, daß im einzelnen Falle außer Lupinen auch Rotklee im 3. und 4. Jahre noch befallen und intensiv geschädigt wurde. Gemeinsames Vorkommen von *Sclerotinia trifoliorum* mit einer *Botrytis*-Art auf blauen Lupinen konnte Verf. in keinem Falle beobachten, wohl aber trat im Göttinger Versuchsgarten *Sclerotinia libertiana* an *Lupinus angustifolius* und *L. Cruikshanksii* stets mit einer gleichzeitigen *Botrytis*-Fruktifikation auf.

Zur Bekämpfung der Krankheit ist es notwendig, die Sklerotien am Auskeimen und Fruchtragen zu hindern, ein Ziel, welches leicht und sicher erreicht wird, wenn das erkrankte Feld unter Verzicht auf den zweiten Kleeschnitt möglichst sofort nach der Ernte des ersten Schnittes tief umgepflügt wird. Andere Bekämpfungsversuche, z. B. starkes Eggen nach dem ersten Schnitt, wodurch die Apothecienbildung verhindert werden sollte, hatten keinen Erfolg. Wo nicht gepflügt wird, dürfte an Stelle der vielfach empfohlenen Grasansaat der Anbau der wertvolleren Luzerne oder Esparsette auf den verseuchten Kleefeldern in Betracht kommen.

Beck (Tharandt).

Laubert, R., Die Rotpustelkrankheit (*Nectria cinnabarina*) der Bäume und ihre Bekämpfung. (Kaiserl. Gesundheitsamt. Biol. Abteilung für Land- u. Forstw. Flugblatt No. 25. März 1904.)

Unter dem Namen „Rotpustelkrankheit“ werden im 25. der von der Biologischen Abteilung am Reichsgesundheitsamte bearbeiteten und herausgegebenen Flugblätter die Beschädigungen besprochen, die unseren Gehölzen durch die *Nectria cinnabarina* zugefügt werden. Die beigegebenen Illustrationen enthalten eine gute Abbildung eines *Tubercularia* und *Peritheci*en tragenden Zweigstückes, sowie Habitusbilder der *Tubercularia*- und *Peritheci*enpolster, Konidienträger, Ascus, Sporen. Von einer Besprechung der als Makrokonidien oder *Fusisporium*-Konidien beschriebenen Sporenform hat Verf. abgesehen. Betreffs der empfohlenen Maßregeln zur Bekämpfung der *Nectria*-Krankheit sei auf das Flugblatt selbst verwiesen.

Autoreferat.

Inhalt.

Originalreferate aus bakteriol. und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Aus dem Institut für Gärungsgewerbe, Berlin.

Henneberg, W., Lebensdauer einiger Kulturheferassen (Frohberg, Saaz,

Rasse XII) im feuchten Zustand bei niedrigen Wärmegraden, und Einfluß verschiedener Organismen auf diese Hefen, p. 641.

Referate.

Baccarini, P., Sul *Ceratostoma juniperinum* Ell. et Ever., p. 661.

- Delacroix, G.**, Sur une forme conidienne du champignon du Black-rot (*Guignardia Bidwellii* Ellis, Viala et Ravaz), p. 654.
- , De la tavelure des Goyaves produite par le *Gloeosporium Psidii* n. sp. G. Del., p. 655.
- Enderlein, G.**, Ein neuer Copeognathentypus, zugleich ein neuer deutscher Wohnungsschädling, p. 666.
- , *Nymphopsocus destructor* Enderl. 1903, ein neuer Copeognathentypus, zugleich ein neuer deutscher Wohnungsschädling, p. 667.
- , *Pthirocoris*, eine neue zu den Henicocephaliden gehörige Rhynchotengattung von den Crozetinseln und *Sphigmocephalus* nov. gen., p. 667.
- Fischer, Ed.**, Fortsetzung der entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen über Rostpilze, p. 653.
- Freeman, Eduard Monroe**, The seed-fungus of *Lolium temulentum* L., the Darnel, p. 657.
- Fuchs, G.**, Etwas über primäre Borkenkäferangriffe, p. 666.
- Goethe, Rudolf**, Ueber den Krebs der Obstbäume, p. 662.
- Griessmayer**, Ueber verschiedene Hefenenzyme, p. 647.
- Guilliermond, A.**, Sur le noyau de la levure, p. 646.
- Guttman, A.**, Praktische Erfahrungen über das Auftreten des Wurzelbrandes der Rüben, p. 660.
- Hecke, Ludwig**, Ueber das Auftreten von *Plasmopara cubensis* in Oesterreich, p. 658.
- Iwanoff, K. S.**, Ueber *Trichothecium roseum* Link als Ursache der Bitterfäule von Früchten, p. 664.
- Laubert, E.**, Eine auffallende Mißbildung der Getreidehalme, p. 665.
- Maire, E.**, Sur l'existence des corps gras dans les noyaux végétaux, p. 646.
- Möller, A.**, Die wahre Ursache der angeblich durch elektrische Ausgleichungen hervorgerufenen Gipfeldürre der Fichten. II., p. 660.
- Orton, W. A.**, Plant diseases in 1903, p. 655.
- Oudemans, C. A. J. A. and Koning, C. J.**, On a *Sclerotinia* hitherto unknown and injurious of the cultivation of Tobacco (*Sclerotinia Nicotianae* Oud. et Kon.), p. 662.
- Pfeiffer, Th.**, Stickstoffsammelnde Bakterien, Brache und Raubbau, p. 650.
- Pfister, F. R.**, Ursache der Betriebsinfektion im Lüftungsverfahren und Mittel zu deren Verhütung, p. 647.
- Pösch, Karl**, Die pilzparasitären Krankheiten ungarischer Kulturpflanzen. (*Fungi parasitici exsiccati plantarum culturarum Hungariae*), p. 655.
- Rayman, Bohuslaw et Kruis, Karel**, Des noyaux des bactéries, p. 645.
- Saccardo, P. A.**, De diagnostica et nomenclatura mycologica, admonita quaedam, p. 652.
- Schellenberg, D. H. C.**, Der Blasenrost der Arve, p. 659.
- Schöne, Albert**, Die Mikroorganismen in den Säften der Zuckerfabriken, p. 648.
- Stebbing, E. P.**, Departmental notes on insects that affect forestry, p. 664.
- Stift, A.**, Ueber das Auftreten des Spaltpilzes *Crenothrix polyspora* im Luftpumpenwasser einer Zuckerfabrik, p. 648.
- Sydow, H. u. P.**, Neue und kritische Uredineen, p. 653.
- , *Asteroconium Saccardoi* Syd. nov. gen. et spec., p. 654.
- , *Urophlyctis hemisphaerica* (Speg.) Sydow, p. 654.
- v. Tubeuf**, Die Blattfleckenkrankheit der Kartoffel (Early blight oder leaf-spot-disease) in Amerika, p. 661.
- Vanselow, Karl**, Polyporus-Schaden an Zwetschenbäumen, p. 664.
- Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.**
- Lindau, G.**, Hilfsbuch für das Sammeln und Präparieren der niederen Kryptogamen mit besonderer Berücksichtigung der Verhältnisse in den Tropen, p. 668.
- Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.**
- Dauphin**, Influence des rayons du radium sur le développement et la croissance des champignons inférieurs, p. 669.
- Freckmann, W.**, Entwicklung und Bekämpfung des Kleeekrebes (*Sclerotinia trifoliorum*), p. 670.
- Kindshoven, J.**, Bespritzungsversuche bei Obstbäumen mit Kupferkalk- und mit Kupfersodabrühe, p. 670.
- Laubert, E.**, Die Rotpustelkrankheit (*Nectria cinnabarina*) der Bäume und ihre Bekämpfung, p. 671.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof.
Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr.
Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W. 50, Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XIII. Band.

Jena, den 10. Dezember 1904.

No. 22/23.

Preis für den Band (etwa 60 Bogen) 15 Mark.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Atmung und Gärung der Schimmelpilze in Rollkulturen.

[Aus dem botanischen Laboratorium von Prof. W. Palladin in
der Frauenhochschule zu St. Petersburg.]

Von **T. Krasnosselsky.**

Mit 6 Figuren.

Der Zusammenhang zwischen Atmung und Gärung der Schimmelpilze war schon der Gegenstand vielfacher Untersuchungen, nämlich seitens Diakonows¹⁾, Kostytschews²⁾ und anderer. Sie brachten die Schimmelpilze für kurze Zeitabschnitte abwechselnd in eine Luftatmosphäre und in einen sauerstofffreien Raum. In der Luft schieden diese Organismen CO² aus, in der sauerstofffreien Atmosphäre ließ diese Ausscheidung nach. Nach diesen

1) Diakonow, Berichte der D. botan. Gesellschaft. 1886.

2) Kostytschew, Berichte der D. botan. Gesellschaft. 1902.

Untersuchungen blieb noch festzustellen, wie sich die Entwicklung der Schimmelpilze gestalten wird, je nachdem man sie für kurze Zeit in die eine oder die andere Atmosphäre versetzt, wie es W. Palladin mit *Chlorothecium saccharophilum* und M. Leschtsch mit Hefe getan haben.

Auf den Vorschlag und unter Leitung des Herrn Prof. W. Palladin unternahm ich eine Reihe von Versuchen in dieser Richtung. Zu diesen Versuchen bediente ich mich zweier Arten Schimmelpilze: *Mucor spinosus* und *Aspergillus niger*. Die Arbeit wurde unter sterilen Bedingungen ausgeführt und die Kultur nach jedem Versuch auf ihre Sterilität geprüft. Als Nährsubstrat diente entweder Pflaumendekokt (Glukose) oder eine Mischung folgender Zusammensetzung:

$\text{PO}_4\text{K}_2\text{H}$	0,3 Proz.
SO_4Mg	0,1 „
Pepton	1 „

mit Zusatz des einen oder des anderen Zuckers. Außerdem kamen überall noch 12–16 Proz. Gelatine hinzu. Die Einimpfung erfolgte mit Sporen in schwach erwärmtes, d. h. flüssiges Medium; nach der Einimpfung wurde der Cylinder (ca. 600 ccm Inhalt) zur regelmäßigen Verteilung der Sporen gut durchgeschüttelt und eine Rollkultur zubereitet, wie es bei W. Palladin¹⁾ beschrieben ist. Die Bestimmung der ausgeschiedenen Kohlensäure wurde mit Pettenkofer'schen Röhren ausgeführt. Zur Beseitigung des Einflusses des Lichtes wurden die Cylinder mit schwarzem Stoff umhüllt. Die Temperatur wurde gemessen, der Versuch aber dauerte mehrere Tage, wobei die nächtliche Temperatursenkung im Laboratorium nicht in Betracht gezogen wurde, was vielleicht Veranlassung zu einigen Ungenauigkeiten der Zahlen gegeben hat. Die Ventilation des Cylinders ging ununterbrochen vor sich. Während der Zeiträume, wo keine Beobachtungen gemacht wurden, wurde ein Luft- oder Wasserstoffstrom durch die Cylinder getrieben (je nachdem, aus welchem Gase die Atmosphäre der Kultur bestand).

Versuch I.

Mucor spinosus. Nährsubstrat: Pflaumendekokt. Zeit der Einimpfung: 14. November.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO_2 in mg	CO_2 in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	16. Nov.	1 Std. 30 Min.	24,8	16,5	21°
„	16. „	1 „ 30 „	24,8	16,5	20°
„	16. „	15 „ 30 „	—	—	—
„	17. „	45 Min.	12,2	16,2	19°
„	17. „	1 Std.	15,4	15,4	19°
„	17. „	1 Std. 40 Min.	—	—	20°
„	17. „	1 „ 30 „	19,2	12,8	21°
„	17. „	20 „ 10 „	—	—	—
„	18. „	2 „ 35 „	31,2	12,0	21°
„	18. „	3 Std.	35,6	11,8	19°
„	18. „	17 Std. 50 Min.	—	—	—
„	19. „	2 „ 10 „	28,0	12,9	20°
„	19. „	3 „ 25 „	—	—	—
„	19. „	1 Std.	13,6	13,6	20°

1) Palladin, Diese Zeitschrift. Abt. II. Bd. XI. 1903.

Am 19. November wurde die Gelatine flüssig. Der Inhalt des Cylinders war durch massenhafte Sporenbildung schwarz gefärbt.

Versuch II.

Mucor spinosus. Nährsubstrat: Pflaumendekokt. Zeit der Einimpfung: 29. März.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	30. März	3 Std.	14,8	4,9	19 °
"	30. "	17 Std. 45 Min.	—	—	—
"	31. "	1 Std.	13,5	13,5	19,5 °
"	31. "	1 "	14,0	14,0	19,5 °
"	31. "	1 "	14,4	14,4	19,5 °
"	31. "	21 "	—	—	—
"	1. April	1 "	7,6	7,6	19,5 °
"	1. "	1 Std. 20 Min.	—	—	—
"	1. "	1 " 30 "	14,0	9,0	19 °
"	1. "	27 Std.	—	—	—
"	2. "	1 "	6,4	6,4	20 °
"	2. "	1 "	6,0	6,0	20 °

Große Sporenmenge. Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Fig. 1 veranschaulicht.

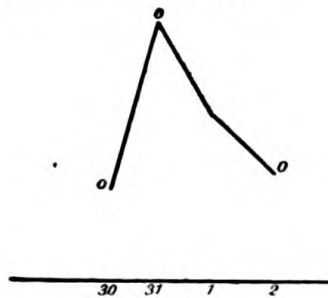


Fig. 1.



Fig. 2.

Versuch III.

Mucor spinosus. Nährsubstrat: Pflaumendekokt. Zeit der Einimpfung: 14. November.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	16. Nov.	1 Std. 30 Min.	34,8	24,0	21 °
"	16. "	1 Std.	25,8		20 °
"	16. "	15 Std. 45 Min.	—		—
"	17. "	1 Std.	19,5	18,6	19 °
"	17. "	1 Std. 30 Min.	27,3		20 °
Wasserstoff	17. "	30 Min.	—		—
"	17. "	3 Std.	42,6	14,2	21 °
"	17. "	2 "	34,6	17,3	21 °
"	17. "	18 Std. 5 Min.	—	—	—
"	18. "	3 Std.	51,0	17,0	21 °
"	18. "	2 Std. 30 Min.	42,0	16,8	19 °
"	18. "	18 Std.	—	—	—
"	19. "	7 "	15,4	2,2	20 °
"	19. "	18 Std. 5 Min.	—	—	—
"	20. "	3 Std.	4,38	1,46	20 °
Luft	20. "	30 Min.	—	—	—
"	20. "	2 Std.	11,6	5,8	20 °
"	20. "	2 "	17,2	8,6	19 °
"	20. "	1 "	10,4	10,4	18 °

Sporen in unbedeutender Anzahl vorhanden. In Wasserstoff hat die Kultur 75 Stunden zugebracht. Die Ergebnisse sind in Fig. 2 (s. p. 675) dargestellt.

Versuch IV.

Mucor spinosus. Nährsubstrat: Pflaumendekokt. Zeit der Einimpfung: 6. Dezember.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	11. Dez.	26 Std.	7,2	0,27	22 °
"	12. "	4 "	15,6	3,9	20,5 °
"	12. "	1 Std. 30 Min.	6,0	4,0	20,5 °
"	12. "	17 " 5 "	—	—	—
"	13. "	2 Std.	12,0	6,0	21,5 °
"	13. "	1 "	7,6	7,6	21 °
Wasserstoff	13. "	45 Min.	—	—	—
"	13. "	1 Std. 30 Min.	11,4	7,6	20,5 °
"	13. "	1 Std.	8,7	8,7	20,5 °
"	13. "	18 Std. 20 Min.	—	—	—
"	14. "	2 Std.	16,0	8,0	20,5 °
"	14. "	3 Std. 15 Min.	—	—	—
"	14. "	3 Std.	22,8	7,6	20,5 °

Im Wasserstoff hat die Kultur 26 Stunden 40 Minuten zugebracht. Sporen fehlen. Alkoholgeruch. Hier und da einige *Mucor* hefen.

Versuch V.

Mucor spinosus. Nährsubstrat: Pflaumendekokt. Zeit der Einimpfung: 28. Dezember.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	30. Dez.	1 Std.	13,6	13,6	20 °
"	30. "	1 "	15,6	15,6	20,5 °
"	30. "	3 Std. 25 Min.	—	—	—
"	30. "	1 Std.	16,0	16,0	20 °
Wasserstoff	30. "	1 "	—	—	—
"	30. "	2 "	21,6	10,8	19,5 °
"	30. "	15 "	—	—	—
"	31. "	1 "	9,2	9,2	18 °
"	31. "	1 Std. 5 Min.	—	—	—
"	31. "	1 Std.	12,0	12,0	17,5 °
"	31. "	30 Min.	—	—	—
"	31. "	1 Std.	15,3	15,3	17 °
"	31. "	21 Std. 30 Min.	—	—	—
"	1. Jan.	1 Std.	16,0	16,0	18,5 °
"	1. "	22 Std. 15 Min.	—	—	—
"	2. "	2 Std.	10,8	5,4	20 °
"	2. "	1 Std. 25 Min.	—	—	—
"	2. "	2 Std.	16,0	8,0	20 °

Am 2. Januar zerfloß die Gelatine. In Wasserstoff war die Kultur 72 Stunden 45 Minuten. Alkoholischer Geruch. Einige *Mucor* hefen.

Versuch VI.

Mucor spinosus. Nährsubstrat: Pflaumendekokt. Zeit der Einimpfung:
4. Januar.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	7. Jan.	1 Std.	22,4	22,4	20°
"	7. "	1 "	22,0	22,0	20°
Wasserstoff	7. "	45 Min.	—	—	—
"	7. "	1 Std.	9,2	9,2	20°
"	7. "	16 Std. 45 Min.	—	—	—
"	8. "	1 Std.	9,6	9,6	18°
"	8. "	2 "	11,6	5,8	19°
"	8. "	2 "	4,8	2,4	20°
"	8. "	21 Std. 45 Min.	—	—	—
"	9. "	30 Min.	1,7	3,4	19,5°
Luft	9. "	45 "	—	—	—
"	9. "	2 Std.	15,2	7,6	19°
"	9. "	17 Std. 20 Min.	—	—	—
"	10. "	3 Std.	22,8	7,6	18,5°
"	10. "	50 Min.	—	—	—
"	10. "	2 Std.	16,4	8,2	19°
"	10. "	24 Std. 40 Min.	—	—	—
"	11. "	4 Std.	20,8	5,2	18°
"	11. "	13 "	—	—	—
"	12. "	4 "	19,8	4,8	18,5°

In Wasserstoffatmosphäre war die Kultur 46 Stunden.

Versuch VII.

Mucor spinosus. Nährsubstrat: Pflaumendekokt. Zeit der Einimpfung:
22. März.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	24. März	3 Std.	11,2	3,73	21,5°
Wasserstoff	24. "	30 Min.	—	—	—
"	24. "	2 Std.	12,8	6,4	22°
"	24. "	17 "	—	—	—
"	25. "	1 "	15,2	14,6	18,5°
"	25. "	1 "	14,0	—	18°
"	25. "	1 "	12,0	12,0	18°
"	25. "	1 Std. 30 Min.	18,4	12,2	18°
"	25. "	1 Std.	16,0	16,0	18°
"	25. "	15 Std. 30 Min.	—	—	—
"	26. "	1 Std.	20,2	20,2	19,5°
"	26. "	1 Std. 30 Min.	31,2	20,8	20°
"	26. "	22 Std.	—	—	—
"	27. "	1 "	16,4	16,4	21,5°
"	27. "	2 "	—	—	—
"	27. "	1 "	16,0	16,0	21,5°
"	27. "	1 "	—	—	—
"	27. "	1 "	15,9	15,9	21,5°
"	27. "	17 "	—	—	—
"	28. "	1 "	9,6	9,6	19,5°
"	28. "	1 "	9,2	9,2	19,5°
"	28. "	23 "	—	—	—
"	29. "	5 "	8,8	1,76	17°
"	29. "	25 "	20,4	0,81	19°

Ende des Versuches den 30. März. Die Kultur hat in Wasserstoff 143 Stunden gewelt. *Mucor* hefen in Fülle vorhanden. Ihre Bildung auf einigen Hyphen sichtbar. Starker Alkoholgeruch. Die Ergebnisse sind in Fig. 3 dargestellt.

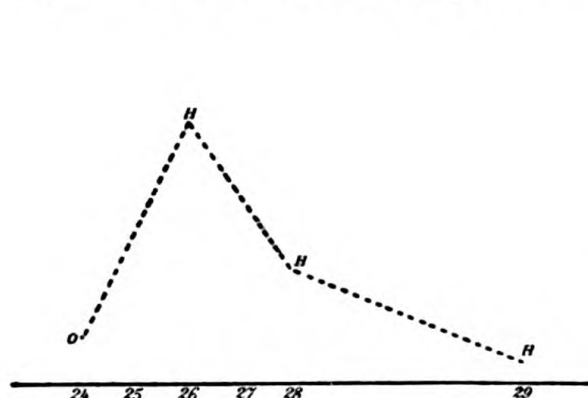


Fig. 3.

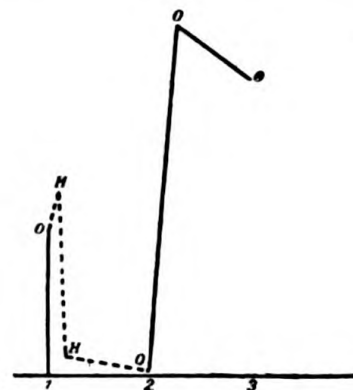


Fig. 4.

Aus den oben angeführten Versuchen ist ersichtlich, daß auf gärungsfähigem Substrate (Pflaumendekokt) kultivierter *Mucor spinosus*, unabhängig davon, ob die Kultur sich in Luft- oder Wasserstoffatmosphäre befindet, stets die gleiche CO_2 -Ausscheidungskurve aufweist, unter der Bedingung, daß die in Wasserstoff befindliche Kultur jung ist. Wenn aber *Mucor spinosus* in alter Kultur eine bedeutende Menge CO_2 ausschied (25,8 mg in Versuch III, 22 in IV), so fällt das Ausscheidungsvermögen bei der Versetzung der Kultur in Wasserstoff, und wird kein Vorhandensein von *Mucor* hefen beobachtet. Bei dem Versuche (VII) mit jungen Zellen hingegen waren bei der Kultur in Wasserstoff fast alle Hyphen in *Mucor* hefen verwandelt.

Versuch VIII.

Mucor spinosus. Künstlich hergestelltes Nährsubstrat + 4,55 Proz. Mannit. Zeit der Einimpfung: 29. März.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO_2 in mg	CO_2 in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	30. März	3 Std.	14,4	4,8	19°
"	30. "	17 Std. 45 Min.	—	—	—
"	31. "	1 Std.	13,8	13,8	19,5°
"	31. "	1 "	14,2	14,2	19,5°
"	31. "	1 "	14,4	14,4	19,5°
"	31. "	21 "	—	—	—
"	1. April	1 "	12,4	12,4	19,5°
"	1. "	1 Std. 10 Min.	—	—	—
"	1. "	1 Std.	9,2	9,2	19,5°
"	1. "	1 Std. 20 Min.	—	—	—
"	1. "	1 Std.	5,6	5,6	19°
"	1. "	27 "	—	—	—
"	2. "	1 "	2,4	2,4	20°
"	2. "	1 "	2,2	2,2	20°

Sehr viel Sporen.

Versuch IX.

Mucor spinosus. Künstlich hergestelltes Nährsubstrat + 4,55 Proz. Mannit. Zeit der Einimpfung: 29. November.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	1. Dez.	2 Std.	14,0	7,0	19,5°
"	1. "	2 "	18,4	9,2	20,5°
Wasserstoff	1. "	30 Min.	—	—	—
"	1. "	1 Std. 30 Min.	14,6	9,0	19,5°
"	1. "	2 Std.	17,6	1,0	19°
"	1. "	2 "	2,0	0,31	19°
"	1. "	18 "	5,6	—	18°
"	2. "	1 "	Spuren	—	18°
Luft	2. "	45 Min.	—	—	—
"	2. "	1 Std. 30 Min.	6,8	4,5	18°
"	2. "	1 " 30 "	11,6	7,7	18°
"	2. "	2 Std.	—	—	—
"	2. "	1 "	20,8	19,0	18°
"	2. "	1 "	17,2	—	19°
"	2. "	14 Std. 15 Min.	—	—	—
"	3. "	1 Std.	17,6	17,6	20°
"	3. "	1 Std. 45 Min.	—	—	—
"	3. "	30 Min.	8,0	16,0	20°
"	3. "	1 Std.	16,0	16,0	19°
"	3. "	1 "	15,8	15,8	19°

Gelatineverflüssigung hat nicht stattgefunden. Sporen wenig vorhanden. In Wasserstoff hat die Kultur 24 Stunden zugebracht. Die erhaltenen Resultate sind in Fig. 4 (s. p. 678) dargestellt.

Versuch X.

Mucor spinosus. Künstlich hergestelltes Nährsubstrat + 4,55 Proz. Mannit. Zeit der Einimpfung: 6. Dezember.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	8. Dez.	1 Std.	5,6	5,6	18,5°
"	8. "	2 "	7,2	3,6	19°
Wasserstoff	8. "	1 "	—	—	—
"	8. "	2 Std. 30 Min.	5,2	2,08	18°
"	8. "	20 Std.	21,2	1,06	18°
"	9. "	22 "	4,8	0,21	17°
Luft	10. "	30 Min.	—	—	—
"	10. "	4 Std.	6,0	1,5	17,5°
"	10. "	2 "	5,6	2,8	17,5°
"	10. "	1 Std. 30 Min.	5,2	3,46	17,5°
"	10. "	1 " 30 "	5,6	3,7	17°
"	10. "	2 Std.	9,2	4,6	16°
"	10. "	12 "	—	—	—
"	11. "	2 "	12,4	6,2	17,5°
"	11. "	1 Std. 30 Min.	14,0	9,3	18°
Wasserstoff	11. "	30 Min.	—	—	—
"	11. "	1 Std. 30 Min.	8,0	5,3	18°
"	11. "	20 Std.	9,6	0,48	22°
"	12. "	5 "	3,6	0,72	20,5°
"	12. "	24 "	3,6	0,15	20,5°
"	13. "	18 Std. 30 Min.	—	Spuren	19°
Luft	14. "	40 Min.	—	—	—
"	14. "	4 Std. 30 Min.	12,0	2,6	20°
"	14. "	1 Std.	5,2	5,2	19,5°
"	14. "	1 "	6,8	6,8	19,5°
"	14. "	3 "	22,2	7,4	18°
"	14. "	1 "	14,8	14,8	18°
"	14. "	15 Std. 55 Min.	—	—	—
"	15. "	1 Std.	15,6	15,6	21°

Gelatineverflüssigung hat nicht stattgefunden. Sporen wenig vorhanden. In Wasserstoff hat die Kultur das erste Mal 45 Stunden 30 Minuten, das zweite Mal 69 Stunden 30 Minuten zugebracht.

Versuch XI.

Mucor spinosus. Künstlich hergestelltes Nährsubstrat + 8,55 Proz. Laktase. Zeit der Einimpfung: 14. November.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	16. Nov.	1 Std. 30 Min.	29,1	19,4	21°
"	16. "	1 Std.	18,4	18,4	20°
"	16. "	19 Std. 25 Min.	—	—	—
"	17. "	3 " 30 "	25,6	7,26	19°
"	17. "	18 " 5 "	—	—	—
"	18. "	5 Std.	29,2	5,84	19°
"	18. "	19 Std. 15 Min.	—	—	—
"	19. "	4 Std.	19,2	4,8	20°

Am 20. November wurde die Gelatine flüssig. Sporen.

Versuch XII.

Mucor spinosus. Künstlich hergestelltes Nährsubstrat + 8,55 Proz. Laktase. Zeit der Einimpfung: 29. November.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	2. Dez.	1 Std.	7,6	7,6	18°
"	2. "	2 "	11,6	5,8	18°
Wasserstoff	2. "	2 Std. 20 Min.	—	—	—
"	2. "	5 Std.	3,2	0,64	19°
"	2. "	12 "	2,8	0,23	19,5°
"	3. "	2 "	Spuren	Spuren	19,5°
Luft	3. "	4 Std. 10 Min.	—	—	—
"	3. "	1 " 30 "	3,6	2,4	19°
"	3. "	1 " 30 "	6,8	4,5	19°
"	3. "	1 Std.	4,8	4,8	19°
"	3. "	13 Std. 30 Min.	—	—	—
"	4. "	2 Std.	10,4	5,2	18,5°
"	4. "	1 "	9,9	9,2	19°
Wasserstoff	4. "	45 Min.	—	—	—
"	4. "	2 Std.	9,0	4,8	19,5°
"	4. "	2 "	2,0	1,0	19,5°

Am 5. Jan. wurde die Gelatine flüssig. Zum 1. Male hat die Kultur im Wasserstoff 21 Std. zugebracht, zum 2. Male 4 Std. 45 Min.

Aus den oben beschriebenen Versuchen ist folgendes ersichtlich: Wenn *Mucor spinosus* auf gärungsunfähigem Substrat in eine Wasserstoffatmosphäre versetzt wird, so fällt seine Atmungsenergie auf Ausscheidung von Zehntel Milligrammen von CO₂ in der Stunde. Stärker ist die bei den Versuchen mit alten Kulturen beobachtete Abnahme (im Verlauf von 2—5 Stunden), weniger scharf in den Versuchen mit jungen Kulturen (23 Std.). Wird die Kultur abermals an die Luft gebracht, so stellt sich eine CO₂-Ausscheidungsenergie ein, gleich der, welche in den Versuchen,

wo die Kultur ununterbrochen an der Luft gewellt hatte, beobachtet worden ist. Indem *Mucor spinosus* in Wasserstoff geringe Quantitäten CO_2 ausscheidet, kann er lange Zeit lebendig bleiben (67 Std. 30 Min. im Versuch X). Wird er darauf wieder in Luftatmosphäre versetzt, so fängt er an, sich zu entwickeln und ausgiebig CO_2 auszuschcheiden, ungeachtet dessen, daß die Kultur im Wasserstoff keine Sporen aufwies (sie erschienen später). Daraus muß man schließen, daß das Mycelium, zum größten Teil wenigstens, bei geringer CO_2 -Ausscheidung lebend bleibt.

Versuch XIII.

Aspergillus niger. Nährsubstrat: Pflaumendekokt. Zeit der Einimpfung 8. Januar.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO_2 in mg	CO_2 in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	9. Jan.	24 Std.	31,2	1,3	19°
"	10. "	4 "	16,4	4,1	19°
"	10. "	23 Std. 25 Min.	—	—	—
"	11. "	1 Std.	16,4	16,4	19°
"	11. "	1 Std. 30 Min.	24,8	16,5	18°
"	11. "	14 " 20 "	—	—	—
"	12. "	55 Min.	15,6	16,9	18,5°
"	12. "	2 Std.	35,2	17,6	18,5°
"	12. "	1 Std. 15 Min.	—	—	—
"	12. "	1 Std.	16,0	16,0	18,5°
"	12. "	30 Min.	7,2	14,4	18,5°

Versuch XIV.

Aspergillus niger. Nährsubstrat: Pflaumendekokt. Zeit der Einimpfung: 18. Januar.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO_2 in mg	CO_2 in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	21. Jan.	3 Std.	10,0	3,33	20°
"	21. "	2 "	12,0	6,0	19°
"	21. "	1 Std. 55 Min.	—	—	—
"	21. "	2 Std.	13,6	6,8	19°
"	21. "	14 Std. 15 Min.	—	—	—
"	22. "	1 " 30 "	22,0	14,6	20°
"	22. "	1 " 45 "	—	—	—
"	22. "	1 Std.	18,4	18,4	19°
"	22. "	20 Std. 50 Min.	—	—	—
"	23. "	1 " 45 "	20,8	11,4	20°
"	23. "	45 Min.	—	—	—
"	23. "	1 Std.	17,6	17,6	20°

In den zwei letzten Versuchen waren Sporen vorhanden.

Versuch XV.

Aspergillus niger. Nährsubstrat: Pflaumendekokt. Zeit der Einimpfung: 18. Januar.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO_2 in mg	CO_2 in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	21. Jan.	3 Std.	20,0	6,6	20°
"	21. "	2 "	20,8	10,4	19°
"	21. "	1 "	10,8	10,8	19°

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Wasserstoff	21. "	35 Min.	—	—	—
"	21. "	1 Std.	12,0	12,0	19°
"	21. "	1 "	8,4	8,4	18°
"	21. "	1 "	5,2	5,2	18°
"	21. "	13 Std. 30 Min.	12,0	0,84	20°

Gelatineverflüssigung nicht stattgefunden. Sehr wenig Sporen vorhanden. In Wasserstoff war die Kultur 72 Stunden.

Versuch XVI.

Aspergillus niger. Nährsubstrat: Pflaumendekokt. Zeit der Einimpfung: 27. Januar.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	30. Jan.	2 Std.	20,4	10,2	21°
Wasserstoff	30. "	1 Std. 10 Min.	—	—	—
"	30. "	2 " 20 "	9,2	3,9	21°
"	30. "	20 Std.	16,4	0,82	19°
Luft	31. "	1 Std. 10 Min.	—	—	—
"	31. "	2 Std.	8,0	4,0	17,5°
"	31. "	2 Std. 45 Min.	18,4	6,66	17°
"	31. "	1 " 30 "	10,8	7,2	17°
"	31. "	13 " 25 "	—	—	—
"	1. Febr.	1 Std.	9,6	9,6	16,5°
"	1. "	22 Std. 35 Min.	—	—	—
"	2. "	1 Std.	19,6	23,4	17,5°
"	2. "	1 "	27,2		17,5°
Wasserstoff	2. "	1 Std. 25 Min.	—	—	—
"	2. "	2 " 30 "	18,8	6,26	17°
"	2. "	19 Std.	19,6	1,03	17°
"	3. "	22 "	18,0	0,81	19°
Luft	4. "	1 "	—	—	—
"	4. "	3 "	8,0	2,66	17,5°
"	4. "	3 "	10,4	3,46	18°
"	4. "	2 Std. 30 Min.	13,6	5,44	18°

In Wasserstoff war die Kultur zum 1. Male 23 Std. 30 Min., zum 2. Male 45 Std. Sporen wenig vorhanden.

Versuch XVII.

Aspergillus niger. Nährsubstrat: Pflaumendekokt. Zeit der Einimpfung: 24. März.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	26. März	3 Std.	8,4	2,6	19,5°
"	26. "	2 "	8,0	4,0	20,5°
"	26. "	20 "	—	—	—
"	27. "	1 "	16,4	16,4	21,5°
"	27. "	1 "	16,4	16,4	21,5°
Wasserstoff	27. "	1 "	—	—	—
"	27. "	1 "	14,4	14,4	21,5°
"	27. "	1 "	—	—	—
"	27. "	1 "	3,6	3,6	21,5°
"	27. "	19 "	18,0	0,94	19,5°
"	28. "	24 "	10,8	0,45	19,5°
"	29. "	4 "	1,2	0,3	17°

Am 29. März wurde die Gelatine flüssig. Sporen wenig vorhanden. Das Mycelium gut entwickelt. In Wasserstoff ist die Kultur 51 Std. geblieben.

Die Ergebnisse der beschriebenen Versuche sind in Fig. 5 und 6 aufgezeichnet.

Fig. 5 entspricht Versuch XIII, Fig. 6 Versuch XVI. Aus dem Vergleich aller Figuren ersieht man, daß auf Pflaumendekokt wachsender *Aspergillus niger* sich zur Uebertragung in Wasserstoff ebenso verhält, wie auf gärungsunfähigem Substrate wachsender *Mucor spinosus*. Der Unterschied besteht bloß darin, daß

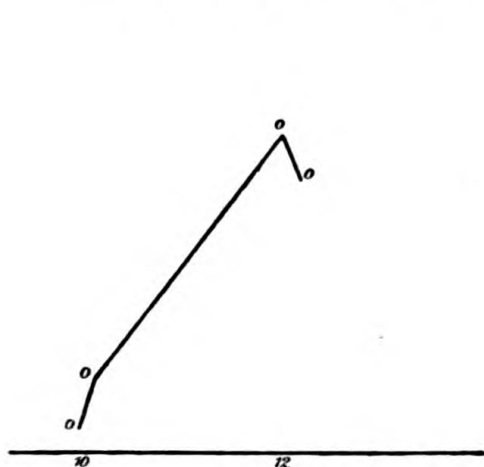


Fig. 5.

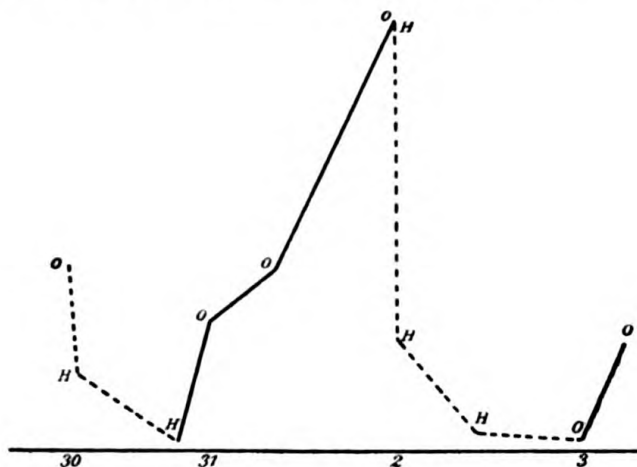


Fig. 6.

Aspergillus niger im Wasserstoff einen schrofferen Fall der Kurve (nach 3—4 Stunden) mit jungen Kulturen und einen weniger schroffen mit alten Kulturen (23 Stunden) aufweist. Wie es oben schon gesagt worden ist, wird bei *Mucor spinosus* das Gegenteil beobachtet.

Versuch XVIII.

Aspergillus niger. Künstlich hergestelltes Nährsubstrat + 4,55 Proz. Mannit. Zeit der Einimpfung: 18. Januar.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	19. Jan.	5 Std. 50 Min.	7,6	1,26	20°
"	19. "	18 " 25 "	—	—	—
"	20. "	3 Std.	11,6	3,86	20,5°
"	20. "	2 "	13,6	6,8	20°
"	20. "	1 "	7,6	7,6	19,5°
"	20. "	16 Std. 55 Min.	—	—	—
"	21. "	1 Std.	12,0	12,0	20°
"	21. "	1 Std. 15 Min.	—	—	—
"	21. "	2 Std.	17,2	8,6	19,5°
"	21. "	1 Std. 45 Min.	19,2	12,8	19°
"	21. "	16 " 40 "	—	—	—
"	22. "	1 " 30 "	15,2	10,13	20°
"	22. "	1 " 45 "	—	—	—
"	22. "	1 Std.	14,4	14,4	19°

Am 23. Jan. zerfloß die Gelatine.

Versuch XIX.

Aspergillus niger. Künstlich hergestelltes Nährsubstrat + 4,55 Proz. Mannit. Zeit der Einimpfung: 18. Januar.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	19. Jan.	5 Std.	15,6	3,12	19,5°
"	19. "	2 "	12,4	6,2	20°
"	19. "	18 Std. 15 Min.	—	—	—
"	20. "	1 Std.	6,0	6,0	20,5°
"	20. "	1 "	6,4	6,4	21°
Wasserstoff	20. "	35 Min.	—	—	—
"	20. "	3 Std.	4,8	16,0	20°
"	20. "	18 "	5,6	0,31	20°
Luft	21. "	40 Min.	—	—	—
"	21. "	4 Std.	10,0	2,5	19°
"	21. "	2 "	11,2	5,6	19°
"	21. "	3 "	14,4	4,8	18°
"	21. "	13 "	—	—	—
"	22. "	1 "	11,2	11,2	20°
"	22. "	1 "	13,6	13,6	19°
Wasserstoff	22. "	1 "	—	—	—
"	22. "	3 "	6,8	2,7	18,5°
"	22. "	25 "	36,4	1,45	20–21°
"	23. "	16 Std. 30 Min.	7,2	0,04	20°

In Wasserstoff war die Kultur zum 1. Male 21 Std. 30 Min., zum 2. Male 45 Stunden.

Versuch XX.

Aspergillus niger. Künstlich hergestelltes Nährsubstrat + 4,55 Proz. Mannit. Zeit der Einimpfung 27. Januar.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	30. Jan.	3 Std.	13,2	4,4	21°
"	30. "	2 "	10,4	5,2	21°
"	30. "	18 Std. 20 Min.	—	—	—
"	31. "	2 Std.	15,2	7,6	18°
Wasserstoff	31. "	55 Min.	—	—	—
"	31. "	6 Std.	6,8	1,13	17,5°
"	31. "	14 "	8,4	0,6	17°
"	1. Febr.	31 Std. 30 Min.	12,0	0,38	16,5°
"	2. "	17 Std.	18,0	1,05	17°
"	3. "	22 "	8,0	0,35	19°
Luft	4. "	1 "	—	—	—
"	4. "	3 "	6,4	2,1	17,5°
"	4. "	3 "	9,6	3,2	18°
"	4. "	2 Std. 30 Min.	11,2	4,48	18°

In Wasserstoff war die Kultur 91 Stunden.

Versuch XXI.

Aspergillus niger. Künstlich hergestelltes Nährsubstrat + 8,55 Proz. Laktose. Zeit der Einimpfung: 22. März.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	24. März	5 Std. 30 Min.	14,4	2,61	21,5°
"	24. "	17 Std.	—	—	—
"	25. "	2 Std.	11,2	5,6	18,5°
"	25. "	1 Std. 30 Min.	—	—	—
"	25. "	1 Std.	6,2	6,2	18°
"	25. "	2 "	13,6	6,8	18°
"	25. "	16 "	—	—	—
"	26. "	1 "	9,4	9,4	19,5°
"	26. "	1 "	10,4	10,4	21,5°
"	27. "	2 "	—	—	—
"	27. "	1 "	12,0	12,0	21,5°
"	27. "	1 "	—	—	—
"	27. "	1 "	10,0	10,0	21,5°
"	27. "	17 "	—	—	—
"	28. "	1 "	6,8	6,8	19,5°
"	28. "	1 "	5,2	5,2	19,5°
"	28. "	23 "	—	—	—
"	29. "	5 "	20,4	4,08	17°

• Sporen in großer Anzahl. Zerfließung der Gelatine wurde nicht beobachtet.

Versuch XXII.

Aspergillus niger. Künstlich hergestelltes Nährsubstrat + 8,55 Proz. Laktose. Zeit der Einimpfung: 22. März.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	24. März	5 Std. 30 Min.	9,6	1,74	21,5°
"	24. "	17 Std.	—	—	—
"	25. "	2 "	8,0	4,0	18,5°
"	25. "	1 "	4,2	4,2	18°
"	25. "	2 "	8,8	4,4	18°
"	25. "	16 "	—	—	—
"	26. "	1 "	8,0	8,0	19,5°
Wasserstoff	26. "	30 Min.	—	—	—
"	26. "	1 Std. 30 Min.	11,2	7,46	20°
"	26. "	2 Std.	10,0	5,0	20,5°
"	26. "	20 "	—	—	—
"	27. "	6 "	0,8	0,13	21,5°
"	27. "	19 "	7,2	0,37	21,5°
"	28. "	24 "	7,2	0,3	19,5°
"	29. "	4 "	Spuren	Spuren	17°
"	29. "	43 "	10,4	0,24	17—19°
Luft	31. "	30 Min.	—	—	—
"	31. April	9 Std.	12,8	1,42	19,5°
"	1. "	15 "	59,2	3,94	19,5°
"	1. "	1 "	4,9	4,9	19,5°
"	1. "	1 Std. 10 Min.	—	—	—
"	1. "	1 Std.	6,8	6,8	19,5°
"	1. "	1 Std. 20 Min.	—	—	—
"	1. "	1 " 30 "	12,0	8,0	19°
"	1. "	27 Std.	—	—	—
"	2. "	1 "	12,4	12,4	20°
"	2. "	1 "	13,6	13,6	20°

In Wasserstoff war die Kultur 120 Stunden.

Versuch XXIII.

Aspergillus niger. Künstlich hergestelltes Nährsubstrat + 14,85 Proz. Raffinose. Zeit der Einimpfung 17. Mai.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	19. Mai	6 Std.	14,4	2,4	20°
"	19. "	15 "	50,4	3,36	19°
"	20. "	1 "	6,0	6,0	19°
Wasserstoff	20. "	30 Min.	—	—	—
"	20. "	1 Std. 30 Min.	8,0	5,28	19°
"	20. "	23 Std.	11,6	0,5	19°
"	21. "	49 "	14,4	0,29	19°
"	22. "	69 Std. 15 Min.	13,6	0,19	20—16°
Luft	26. "	45 Min.	—	—	—
"	26. "	4 Std.	2,8	0,7	16°
"	26. "	8 "	8,0	1,0	18,5°
"	26. "	14 "	20,4	1,45	19°
"	27. "	2 "	5,6	2,8	19°
"	27. "	2 "	7,2	3,6	20°
"	27. "	6 "	24,8	4,1	19°

In Wasserstoff hat die Kultur 143 Stunden zugebracht.

Aus den oben beschriebenen Versuchen ergibt sich folgendes: *Aspergillus niger* verhält sich stets gleich gegenüber der Entziehung des Sauerstoffes, unabhängig davon, ob er auf Mannit, Laktose oder Raffinose wächst. In Wasserstoff kann er lange Zeit (141 Stunden in Versuch XXIII) Zehntel Milligramm CO₂ in der Stunde ausscheiden. Dabei bleibt er lebendig und entwickelt sich nach Ersatz des Wasserstoffes durch Luft.

Auf Grund aller angeführten Versuche gelangt man zu folgenden Schlußfolgerungen:

1) *Mucor spinosus* und *Aspergillus niger* geben an der Luft auf gärungsfähigem oder -unfähigem Substrate ähnliche Kohlensäureausscheidungskurven.

2) Auf gärungsfähigem Substrate verhalten sie sich verschieden gegenüber der Entziehung des Sauerstoffes. *Mucor spinosus* weist Hefenbildung auf und die CO₂-Kurven zeigen, daß ein Gärungsprozeß vor sich geht. Bei *Aspergillus niger* wird keine derartige Erscheinung beobachtet.

3) *Mucor spinosus* auf nichtgärendem Substrate und *Aspergillus niger* sowohl auf gärendem als auch auf nichtgärendem Substrate scheiden in Wasserstoff weniger CO₂ aus als an der Luft. Zuweilen scheiden sie nur Spuren von CO₂ aus. In diesem Zustande können sie lange lebendig (*Mucor spinosus* 67 Std., *Aspergillus niger* 141 Std.) und zur weiteren Entwicklung bei Ersatz des Wasserstoffes durch Luft fähig erhalten werden. Tritt diese ein, so steigt die Quantität der ausgeschiedenen CO₂ rasch und übertrifft manchmal die in normalen Verhältnissen an der Luft ausgeschiedene CO₂-Menge. Diese starke CO₂-Ausscheidung dauert nicht lange und fängt allmählich an, abzunehmen. Folglich sehen wir hier denselben Vorgang, welchen Palladin bei *Chlorothecium saccharophilum* beschrieben hat.

4) *Mucor spinosus* und *Aspergillus niger* auf den unter 3) bezeichneten Substraten verhalten sich zur Sauerstoffentziehung nur in der Hinsicht verschieden, daß bei ersterem die CO_2 -Ausscheidungsabnahme im Wasserstoff in den Versuchen mit alten Kulturen schärfer auftritt als in den Versuchen mit jungen Kulturen. Bei letzteren findet das Gegenteil statt.

Nachdruck verboten.

Studien über die flüchtigen Fettsäuren im Käse nebst Beiträgen zur Biologie der Käsefermente.

Von Dr. Orla Jensen,

Vorstand der schweizerischen milchwirtschaftlichen Versuchsanstalt.

(Fortsetzung.)

Diese Tabelle (p. 615) zeigt, daß der Silbergehalt der ersten Fraktion kleiner als derjenige des capronsäuren Silbers ist, weshalb diese Fraktion etwas caprylsaures Silber enthalten muß. Da es kaum anzunehmen ist, daß sie nicht auch buttersaures Silber enthält, so besteht sie wahrscheinlich aus einem Gemisch von 3 Silbersalzen, und es ist deshalb möglich, sie in unendlich vielen Weisen zu deuten. Durch die in der Tabelle befolgte Deutung kommt man indessen zu einer Gesamtmenge von Capronsäure und Buttersäure, die mit derjenigen aus der Fettspaltung berechneten fast völlig übereinstimmt, weshalb man berechtigt ist, diese Deutung für die richtige zu halten. Die Lösung der dritten Fraktion wurde eingeeengt (wodurch sie sich schwärzte) und filtriert; im Filtrat schied sich beim Erkalten ein Niederschlag mit 61,63 Proz. Silber aus; da dieser Silbergehalt größer als derjenige des propionsäuren Silbers ist, enthält das Käsedestillat also Essigsäure; ob auch Propionsäure darin vorkommt, läßt sich schwierig aus den Silbersalzen ausfindig machen, denn eine kleine Menge dieser Säure unter größeren Mengen Buttersäure und Essigsäure läßt sich, wie viele Fraktionen wir auch vornehmen würden, ebensogut als ein Gemisch der zwei letzten Säuren deuten. Mit dem Nachweis von Propionsäure in den zwei vorhergehenden Hartkäsen wie auch in den meisten Käsefermentkulturen ist es indessen wahrscheinlich gemacht, daß wir diese Säure auch in anderen Hartkäsen antreffen werden, und in Wirklichkeit sprechen bei diesen Käsen die durch das Duclauxsche Verfahren gefundenen Verhältniszahlen auch immer (jedoch nicht immer ganz entscheidend) für die Anwesenheit von Propionsäure. Wir wollen im vorliegenden Falle ganz unparteiisch vorgehen und versuchen, die gefundenen Verhältniszahlen in bestmöglicher Weise sowohl ohne Einführung (a) als bei Einführung (b) von Propionsäure zu deuten und dann vergleichen, wie die besten Resultate erhalten werden. Zu diesem Zwecke wurde das Destillat von 200 g Käse nach den üblichen Methoden in 4 Hauptfraktionen geteilt und dieselben nach Duclaux destilliert. Die dadurch erhaltenen Zahlen sind folgende:

I. Fraktion										
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
4,300	3,300	2,775	2,150	1,675	1,350	1,100	0,950	0,750	0,650	0,600
4,300	7,600	10,375	12,525	14,200	15,550	16,650	17,600	18,350	19,000	19,600
22,6	40,0	54,6	65,9	74,7	81,8	87,6	92,6	96,6	100,0	
a. (21,4	38,7	53,8	65,4	74,7	82,3	87,8	92,7	96,8	Cs: Bs: Es = 4:9:1	
b. (21,9	39,2)	54,4	65,8	74,8	82,3	87,7	92,6	96,8	Cs: Bs: Es: Ps = 4,5:6:2:0,5	
II. Fraktion										
3,700	3,000	2,550	2,150	1,825	1,600	1,400	1,250	1,075	1,000	1,100
3,700	6,700	9,250	11,400	13,225	14,825	16,225	17,475	18,550	19,550	20,650
18,9	34,3	47,3	58,3	67,6	75,8	83,0	89,4	94,9	100,0	
a. (17,7	33,0	46,4	57,9	67,6	75,8	82,5	89,2	94,8	Cs: Bs: Es = 2:10:3	
b. (18,2	33,4)	47,1	58,2	67,7	75,9	82,7	89,2	94,8	Cs: Bs: Es: Ps = 1,4:3:1,5:1	
III. Fraktion										
1,900	1,825	1,700	1,575	1,500	1,425	1,425	1,425	1,425	1,550	2,100
1,900	3,726	5,425	7,000	8,500	9,925	11,350	12,775	14,200	15,750	17,850
12,1	23,6	34,3	44,4	54,0	63,0	72,1	81,1	90,2	100,0	
a. 11,9	23,3	33,9	44,2	53,9	63,2	71,9	80,9	89,9	Bs: Es = 1:1,3	
b. 11,8	23,2	33,9	44,3	54,0	63,5	72,3	81,4	90,3	Bs: Ps: Es = 1,1:0,6:1,5	
IV. Fraktion										
0,525	0,575	0,600	0,625	0,675	0,700	0,750	0,825	0,975	1,200	
0,525	1,100	1,700	2,325	3,000	3,700	4,450	5,275	6,250	7,450	9,440
7,0	14,8	22,8	31,2	40,3	49,7	59,7	70,8	83,9	100,0	
7,3	14,9	23,0	31,5	40,3	49,8	59,9	71,2	83,9	Es: As = 10:1	
Summa:										
		(In 100 cem		+ 6,76 Es + 0,7 As		= 7,45)				
		In 100 cem		+ 8,44 Es + 1,0 As		= 9,44				
		a. 8,4 Cs + 34,1 Bs		+ 24,1 Es + 1,0 As		= 67,6		In 200 g Kiese		
		b. 11,0 Cs + 24,1 Bs + 10,85 Ps + 20,59 Es + 1,0 As				= 67,6				
		a. 4,2 Cs + 17,0 Bs		+ 12,1 Es + 0,5 As		= 33,8		In 100 g Kiese		
		b. 5,5 Cs + 12,0 Bs + 5,5 Ps + 10,3 Es + 0,5 As				= 33,8				

Vergleicht man jetzt die gefundenen Verhältniszahlen mit den berechneten, so sieht man, daß diese bei der ersten und zweiten Hauptfraktion durch Einführung von Propionsäure besser übereinstimmen als ohne dieselbe, bei der dritten Hauptfraktion ist dagegen kein nennenswerter Unterschied wahrnehmbar. Selbst bei Einführung von Propionsäure bleiben indessen die zwei ersten berechneten Verhältniszahlen der zwei ersten Hauptfraktionen etwas niedriger als die gefundenen; dieses dürfte wohl von einer kleinen Menge Caprylsäure herrühren, die sich ja auch im Silbergehalt der Silbersalze bemerkbar machte. Wenn auch die Verhältniszahlen in diesem Falle nicht sehr deutlich für die Anwesenheit von Propionsäure sprechen, so tun dieses um so mehr die Endresultate. Denn die Analyse der Silbersalze hat ergeben (in welcher Weise wir auch die erste Fraktion dieser Salze deuten mögen), daß vorliegender Käse ziemlich genau so viel Capron- und Buttersäure enthält, wie von der Fettspaltung herrühren kann, und so genau, wie es sich nach den komplizierten Methoden und Berechnungen erwarten läßt, bekommt man diese Mengen, wenn man Propionsäure einführt; unterläßt man dagegen dieses, so bekommt man Resultate, die mit den früheren Ergebnissen nicht übereinstimmen. Aller Wahrscheinlichkeit nach sind daher die unter b stehenden Zahlen die richtigen. Ich habe hier absichtlich ein schwieriges Beispiel vorgeführt, um zu zeigen, wie weit die Anwendbarkeit meiner Methoden reicht. Bei den aus Zentrifugenmilch bereiteten Käsen, die weniger Buttersäure enthalten, sprechen die Verhältniszahlen ebenso entscheidend für Propionsäure wie bei den Emmentalerkäsen.

In ähnlicher Weise wurden zwei andere Magerkäse, nämlich der in Tabelle I als Magerkäse No. 2 bezeichnete, ebenfalls aus von Hand abgerahmter Milch bereitete Käse (2) und ein Zentrifugenmilchkäse (4), untersucht. Die Resultate sind in der Tabelle XXX zusammengestellt.

Tabelle XXX.

Käse- nummer		Im Käse Proz.-Fett	Im Fette Säurezahl d. n. f. Fettsäuren	Von der Fettspaltung kann herrühren		Gefunden					D. Z.
				Capron- säure	Butter- säure	Capron- säure	Butter- säure	Propion- säure	Essig- säure	Amei- sensäure	
2	Inneres	8,80	166	9,0	18,0	8,5	17,0	32,5	20,0	3,0	81
	Aeußeres	10,30	220	14,4	28,8	14,5	29,0	37,5	18,0	1,0	100
4	Inneres	1,56	220	2,1	4,3	2,1	4,3	24,8	15,1	0,0	36,3

Auch diese Käse enthalten, wie die Tabelle zeigt, nicht mehr, aber auch nicht weniger Capron- und Buttersäure, als was von der Fettspaltung herrühren kann; sogar die untersuchte Rindenschicht enthält im Gegensatz zu den Rindenschichten der Emmentalerkäse die volle berechnete Menge dieser Säuren, was wohl zum Teil daher rührt, daß die Magerkäse nicht so fleißig gesalzen und gewaschen

werden wie die Emmentalerkäse, zum Teil vielleicht auch daher, daß durch Fäulnis der Rinde kleine Mengen Isovaleriansäure und Buttersäure entstehen, welche die Verluste kompensieren können.

Aus diesen Untersuchungen läßt sich schließen, daß die durch Gärungsprozesse gebildeten flüchtigen Säuren im Magerkäse wie in den zwei vorhergehenden Käsesorten hauptsächlich aus Propionsäure und Essigsäure bestehen, daß die Magerkäse aber wegen der darin stattfindenden starken Fettspaltung eine annähernd ebenso große Menge Capron- und Buttersäure enthalten können. Eine Buttersäuregärung findet somit gewöhnlich auch nicht in den schweizerischen Magerkäsen statt. Ich schreibe „gewöhnlich“, denn in einem untersuchten Käse (nämlich in dem in den Tabellen I und II als Magerkäse No. 1 bezeichneten) ergab die Analyse unzweideutig etwas mehr höhere flüchtige Säuren, als was von der Fettspaltung hätte herrühren können; da es mir indessen nicht gelang, festzustellen, ob diese höheren Säuren Valeriansäure oder Buttersäure waren, verzichte ich darauf, näher auf die diesbezüglichen Untersuchungen einzugehen.

Da die Reifung der schweizerischen Magerkäse in bakteriologischer Hinsicht nicht eingehend erforscht sind, kann man zur Zeit nicht beurteilen, mittels welcher Bakterien die verschiedenen darin verlaufenden Vorgänge zu stande kommen. Es ist wohl anzunehmen, daß die Propion- und Essigsäure hier wie im Emmentalerkäse den Milchsäurefermenten ihre Entstehung verdanken, aber woher rührt das viele Ammoniak und die starke Fettspaltung? Ohne Zweifel müssen auch andere Bakterien als die Milchsäurefermente sich an der Reifung dieser Käsesorte beteiligen. Da die Magerkäse nicht eine so dichte Konsistenz wie die Emmentalerkäse besitzen, bieten sie günstigere Entwicklungsbedingungen für aerobe Bakterien, weshalb die Reifung von solchen (und zwar nicht nur von verflüssigenden Kokken, sondern wahrscheinlich auch von spezifischen Ammoniakbildnern, wie dem später zu besprechenden *Bacillus casei limburgensis*) stärker beeinflusst wird, als es bei den Emmentalerkäsen der Fall war. Künftige Untersuchungen müssen dieses aufklären. Was speziell die in den Magerkäsen¹⁾ stattfindende Fettspaltung betrifft, so ist hervorzuheben, daß die in der Magermilch zurückgebliebenen Fettkügelchen die allerkleinsten sind und somit eine verhältnismäßig große Angriffsfläche darbieten.

Roquefortkäse.

Die Reifung der Roquefortkäse wird ohne Zweifel in erster Linie von dem die blaugrünen Adern bildenden *Penicillium glaucum* bewirkt. Es ist dagegen anzunehmen, daß die Milchsäurefermente bei diesem Prozeß nur eine untergeordnete Rolle spielen, weil er bei einer für die Tätigkeit dieser Bakterien ungünstigen Temperatur, nämlich bei c. 8° C, stattfindet. Die Er-

1) Auch im dänischen Magerkäse geht, wie ich gezeigt habe (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. III. p. 750) eine starke Fettspaltung vor sich, weshalb es wahrscheinlich ist, daß eine solche in allen Magerkäsen stattfindet.

gebnisse meiner Untersuchungen bestärken diese Annahmen. *Penicillium glaucum* ist mit einem hohen Fettspaltungsvermögen ausgestattet und in der Tat rührt die Hauptmenge der flüchtigen Fettsäuren im Roquefortkäse von der Fettspaltung her, während sie weniger von den durch die Milchsäurefermente gebildeten Säuren enthalten.

Als erstes Beispiel nehme ich den von mir untersuchten Käse, der die größte Fettspaltung aufwies. Schon beim Destillieren dieses Käses fiel sein großer Gehalt an unlöslichen und schwerlöslichen flüchtigen Fettsäuren in die Augen, indem das Destillat vollständig milchig wurde. Die aus letzterem dargestellten Barytsalze lösten sich leicht in absolutem Alkohol und hinterließen nur einen kleinen ungelösten Rest, der unter anderem ameisensauren Baryt enthielt. Durch Abrauchen der Barytsalze mit Schwefelsäure entstand 75,7 Proz. BaSO_4 , was mit dem buttersauren Baryt ziemlich nahe übereinstimmt, der unter diesen Verhältnissen 74,9 Proz. BaSO_4 liefern würde. Der Fettgehalt des vorliegenden Käses war 35,20 Proz. und das Fett hatte die (reduzierte) Säurezahl der nicht flüchtigen Fettsäuren von 80, woraus sich berechnen läßt, daß die in 100 g Käse vorhandene, von der Fettspaltung herrührende Capron- und Buttersäure 18 bzw. 36 ccm $\frac{n}{10}$ -Lauge entsprechen müssen. Es

ist jedoch zu berücksichtigen, daß meine für diese Berechnung nötige Formel sich auf die durchschnittliche Zusammensetzung des Fettes der Kuhmilch bezieht. Roquefortkäse wird indessen aus Schafmilch bereitet, und es wäre von vornherein nicht unwahrscheinlich, daß die Glyceride der flüchtigen Fettsäuren in Schafbutter in einem anderen Verhältnis als in Kuhbutter vorkämen. Ferner wird unsere Berechnung dadurch unsicher gemacht, daß die Schimmelpilze, wie Duclaux¹⁾ und später Laxa²⁾ gezeigt haben, die Butyrine leichter als die Capronine zerlegen. In Uebereinstimmung hiermit ergab die Analyse der Silbersalze der flüchtigen Säuren des vorliegenden Roquefortkäses (die Ausführung dieser Analyse geschah genau wie beim Magerkäse) weniger Capronsäure und mehr Buttersäure als berechnet, nämlich Mengen, die, auf 100 g Käse umgerechnet, 12,5 und 45,0 ccm $\frac{n}{10}$ -Lauge entsprechen würden.

Aus dieser großen Menge Buttersäure den Schluß zu ziehen, daß im Roquefortkäse eine Buttersäuregärung stattfindet, scheint mir jedoch, schon in Berücksichtigung der niedrigen Reifungstemperatur dieser Käsesorte, sich nicht zu rechtfertigen.

Es ist zu verwundern, daß man im Roquefortkäse anscheinend die ganze von der Fettspaltung herrührende Menge Capron- und Buttersäure wiederfindet, denn auf der Oberfläche der Butter verzehren die Schimmelpilze, wie ich³⁾ gezeigt habe, diese Säuren fast ebenso schnell, wie sie sie bilden. Es ist indessen nicht zu

1) *Le lait*. 1894. p. 60—61.

2) *Archiv f. Hyg.* Bd. XLI. 1902. p. 140—141.

3) *Studien über das Ranzigwerden der Butter*, I. c.

vergessen, daß die Schimmelpilze im Käse reichliche Stickstoffnahrung zur Verfügung haben und somit nicht, wie in der Butter, ihre Energie hauptsächlich aus dem Fette schöpfen müssen. Ferner dürfte das Verhalten der Schimmelpilze gegenüber den Glyceriden ein ähnliches sein wie gegenüber den Zuckerarten. Bei reichlicher Luftzufuhr wird der Zucker von den Schimmelpilzen vollständig verbrannt, unter anaeroben Bedingungen dagegen nur teilweise, was sich durch die Entstehung von Alkohol kundgibt. Ebenso verhält es sich mit den Glyceriden der wasserlöslichen Fettsäuren, diese werden bei reichlicher Luftzufuhr fast vollständig verbrannt, bei beschränkter, wie im Roquefortkäse, werden sie dagegen nur hydrolytisch gespalten oder, was jedoch nur einen ganz kleinen Teil betrifft, in Amyl- und Aethylester umgebildet. Diese Ester, die für das Aroma des Roquefortkäses so charakteristisch sind, werden nach meinen Untersuchungen¹⁾ in Butter von *Penicillium glaucum* allein nur spärlich gebildet, sie entstehen dagegen in merkbarer Menge durch die Symbiose dieses Pilzes mit *Oidium lactis*, weshalb es nicht ausgeschlossen ist, daß auch letzterer in der Milch immer vorhandene Pilz eine Rolle bei der Aromabildung des Roquefortkäses spielt. Die Esterzahl des vorliegenden Käses war 2 (ccm $\frac{n}{10}$ -Lauge auf 100 g Käse berechnet) und die Destillationszahl 69,5. Da die Capronsäure und Buttersäure zusammen 57,5 ccm $\frac{n}{10}$ -Lauge entsprechen, so beträgt die Destillationszahl der nicht von der Fettspaltung herrührenden Säuren nur 12. Um ausfindig zu machen, aus was diese letzteren bestehen, wurde das Destillat von 100 g Käse, wie gewohnt, behandelt, in 4 Hauptfraktionen geteilt, dieselben nach Duclaux destilliert und die gefundenen Verhältniszahlen in Uebereinstimmung mit den Ergebnissen der Silbersalzanalyse gedeutet. Auf diese Weise kommt man zu folgendem Resultate:

(Siehe Tabelle p. 693.)

Wie wir bei der Analyse des Magerkäses sahen, sind auch hier die zwei ersten gefundenen Verhältniszahlen der zwei ersten Hauptfraktionen abnorm hoch, was von einer kleinen Menge Caprylsäure verursacht wird. Daß die Caprylsäure nicht sämtliche Verhältniszahlen dieser Fraktionen beeinflußt, rührt daher, daß sie sich in verdünnten, wässrigen Lösungen so langsam mit $\frac{n}{10}$ Lauge verbindet, daß ganz minimale Mengen dieser Säure der Titrierung entgehen. Aus obigen Untersuchungen ist zu schließen, das Roquefortkäse keine bemerkbare Mengen Propionsäure enthält.

Die folgende Tabelle zeigt die Ergebnisse der Analyse von zwei anderen Roquefortkäsen, nämlich von demjenigen in den Tabellen I und II als Roquefortkäse No. 1 bezeichneten (1) und

1) Studien über das Ranzigwerden der Butter, l. c.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
I. Fraktion	2,650 2,650 24,5 (23,5)	1,975 4,625 42,8 41,9)	1,625 6,250 57,9 57,9	1,275 7,525 69,7 69,6	0,975 8,500 78,7 78,7	0,750 9,250 85,6 85,8	0,550 9,800 90,7 90,6	0,450 10,250 94,9 94,7	0,325 10,575 98,1 98,0	0,225 10,800 100,0 100,0	0,200 11,000 gefunden berechnet
Cs : Bs = 1 : 1,7, also 4,10 Cs + 6,90 Bs = 11,000											
II. Fraktion	5,025 5,025 24,2 (22,8)	3,675 8,700 41,9 40,8)	3,000 11,700 56,4 56,4	2,400 14,100 68,0 68,0	1,850 15,950 76,9 77,2	1,450 17,400 84,0 84,1	1,175 18,575 89,5 89,5	0,900 19,475 93,9 93,9	0,700 20,175 97,2 97,5	0,575 20,750 100,0 100,0	0,375 21,125 gefunden berechnet
Cs : Bs : Es = 1,1 : 2 : 0,1, also 6,80 Cs + 13,60 Bs + 0,725 Es = 21,125											
III. Fraktion	3,950 3,950 17,8 17,4	3,400 7,350 33,1 32,8	2,950 10,300 46,4 46,3	2,575 12,875 58,0 58,1	2,250 15,125 68,1 68,2	1,975 17,075 76,9 76,9	1,650 18,725 84,3 83,9	1,350 20,075 90,4 90,2	1,200 21,225 95,6 95,5	0,975 22,200 100,0 100,0	gefunden berechnet
Cs : Bs : Es = 1,1 : 12 : 2, also 1,62 Cs + 17,64 Bs + 2,94 Es = 22,200											
IV. Fraktion	1,700 1,700 13,0 12,7	1,550 3,250 24,8 24,7	1,450 4,700 35,9 35,8	1,350 6,050 46,2 46,3	1,275 7,325 55,9 56,1	1,200 8,525 65,1 65,3	1,115 9,675 73,9 74,1	1,125 10,800 82,4 82,3	1,100 11,900 90,8 90,9	* 1,200 13,100 100,0 100,0	15,100 gefunden berechnet
Bs : Es : As = 1,2 : 1 : 0,1 (also und Summa: 12,52 Cs + 45,14 Bs + 10,765 Es + 1,00 As = 69,425 = D. Z.)											
6,83 Bs + 5,70 Es + 0,57 As = 13,1 in 100 ccm) 7,00 Bs + 7,10 Es + 1,00 As = 15,1 in 101 ccm											

von einem frisch aus den Felsenhöhlen in Roquefort herausgenommenen, während des Winters versandten Käses (3).

Tabelle XXXI.

Käse- nummer		Im Käse Proz. Fett	Im Fette Säurezahl d. n. f. Fettsäuren	Von der Fett- spaltung kann herrühren		Gefunden				D. Z.
				Capron- säure	Butter- säure	Capron- säure	Butter- säure	Essig- säure	Ameisen- säure	
1	Inneres und Aeußeres zusammengerieben	35,10	37,0	8,2	16,4	8,0	19,0	9,0	2,0	38
3	Inneres und Aeußeres zusammengerieben	30,84	12,6	2,3	4,7	1,0	6,0	4,5	0,5	12

Diese zwei Analysen zeigen, daß das Fett im Roquefortkäse nicht immer so stark gespalten ist wie in dem zuerst untersuchten Käse, ja es ist sogar anzunehmen, daß die in den Kellern der „Société des Caves réunies“ stattfindende Fettspeicherung keine sehr große ist; erst wenn die Käse bei höherer Temperatur versandt werden und längere Zeit in den Verkaufslökalen der Detaillisten liegen, wird eine größere Menge Fett zersetzt. Bei der Analyse dieser Käse ist, wie eingangs erwähnt, zu beachten, daß man das zusammengeriebene Material sofort in Arbeit nimmt, denn in dieser Masse schreitet die Fettspeicherung mit unglaublicher Schnelligkeit

vorwärts. Mit dem Grade der Fettspaltung der Roquefortkäse steigert sich natürlicherweise auch die Stärke des für diese Käsesorte so charakteristischen Geschmackes und Geruches.

Camembert- und Brie-käse.

Da diese zwei Käsesorten sehr verwandt sind, wollen wir sie zusammen behandeln. Nach Duclaux¹⁾ zerfällt ihre Reifung in drei Phasen, eine erste (die übrigens für alle Labkäse gemeinsam ist), während welcher die Milchsäurefermente den Milchzucker vergären, wodurch die Käsemasse sauer und somit für Schimmelpilze ein günstiger Nährboden wird, eine zweite, während welcher die Milchsäure an der Oberfläche von dem dort zum Vorschein kommenden *Penicillium glaucum* verbrannt oder durch Ammoniak abgestumpft wird, und eine dritte, während welcher peptonisierende Bakterien „le rouge“, die sich jetzt an der neutralen oder alkalisch gemachten Oberfläche gut entwickeln können, nach und nach das Parakasein umbilden. Roger²⁾, der mit gutem Erfolg Reinkulturen bei der Bereitung französischer Weichkäse verwendet hat, ist es gelungen, an der Oberfläche des Brie-käses neben *Penicillium glaucum* auch ein weißes *Penicillium* nachzuweisen, und er hält den Einfluß des letzteren für viel günstiger als des ersteren. Zu demselben Resultat ist Epstein³⁾, der den weißen Schimmelpilz *Penicillium album* genannt hat, gekommen. Die Ansichten von Roger und Epstein bezüglich der Reifung des Brie-käses gehen sonst weit auseinander. Roger nimmt nämlich, wie Duclaux, an, daß die Umbildung des Parakaseins wesentlich von peptonisierenden Bakterien bewirkt wird, und er hat eine solche, *Bacillus firmitatis*, gezüchtet, die sehr langsam wächst und das spezifische Aroma des Brie-käses hervorrufen soll. Epstein dagegen schreibt den *Penicillien* (natürlicherweise im Verein mit den Milchsäurefermenten) die ganze Reifung zu.

Ueber die Pilzflora des Camembertkäses liegen meines Wissens keine eingehenden Arbeiten vor. Epstein⁴⁾ ist der Ansicht, daß die Schimmelpilze bei der Reifung dieser Käsesorte keine Rolle spielen, eine Ansicht, welche niemand mit ihm teilen kann, der in der Normandie (dem Hauptproduktionsort des Camembertkäses) die üppigen Schimmelpilzwucherungen auf den Camembertkäsen gesehen hat.

Sowohl der Camembertkäse als auch der Brie-käse enthalten sehr wenige flüchtige Säuren, weshalb ich nur eine Probe jeder Sorte näher untersucht habe, nämlich die in der Tabelle I aufgeführten.

1) *Le Lait*. 1894. p. 289.

2) *Fabrication des fromages de Brie par l'emploi des ferments naturels et des spores de mucédinées*. (Communication faite à la Société d'Agriculture de Meaux. 1898.)

3) *Archiv f. Hygiene*. Bd. XLV. 1892. p. 354.

4) *Arch. f. Hyg.* Bd. XLIII. 1902. p. 1.

Das Innere der Camembertkäse (die sorgfältig geschälte und zusammengeriebene Masse einer größeren Anzahl Käse) enthielt 18,08 Proz. Fett, und das Fett hatte die (reduzierte) Säurezahl der nicht flüchtigen Säuren von 6, woraus sich berechnen läßt, daß die von der Fettspaltung herrührenden, in 100 g Käse vorhandenen Mengen Capron- und Buttersäure 0,68 bzw. 1,36 ccm $\frac{n}{10}$ Lauge entsprechen. Nach der Analyse der Silbersalze entsprach die Menge der Capronsäure auch 0,7 ccm $\frac{n}{10}$ Lauge, die Menge der Butter-

säure dagegen 3,0 ccm $\frac{n}{10}$ Lauge, also wie beim Roquefortkäse mehr als berechnet. Um diese Tatsache zu erklären, ist die Annahme einer Buttersäuregärung nicht notwendig, ja nicht einmal wahrscheinlich, denn die nur 2 cm dicken Camembertkäse bieten jedenfalls nicht so gute anaerobe Bedingungen wie die Hartkäse, und da in den letzteren, wie wir gesehen haben, gewöhnlich keine Buttersäuregärung stattfindet, so müßte die Menge der Buttersäure im Camembertkäse viel größer sein, um hier die Annahme einer Buttersäuregärung zu rechtfertigen. Die geringe Höhe und die verhältnismäßig große Oberfläche des Camembertkäses haben dagegen zur Folge, daß die an der Oberfläche gebildeten Stoffe, wie das Ammoniak und die von der Fettspaltung herrührenden Säuren, mittels Diffusionsvorgänge einen großen Einfluß auf die innere Masse ausüben müssen, und da die Fettspaltung an der Oberfläche wegen der Schimmelpilzwucherung eine starke ist, so kann man sich nicht verwundern, wenn man im Innern etwas mehr Buttersäure antrifft, als was von der an dieser Stelle stattfindenden Fettspaltung herrührt. Da die Destillationszahl des vorliegenden Käses bloß 6,6 betrug und mir von den anderen Untersuchungen nur noch 200 g übrig geblieben waren, so konnte ich bei der Analyse der flüchtigen Säuren nach dem Duclauxschen Verfahren nicht gut mehr als zwei Hauptfraktionen machen. Die nach diesem Verfahren erhaltenen Zahlen und ihre Deutung sind folgende:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
I. Fraktion	1,325	1,025	0,850	0,700	0,600	0,500	0,400	0,350	0,300	0,275	* 0,325
	1,325	2,350	3,200	3,900	4,500	5,000	5,400	5,750	6,050	6,325	6,650
	20,9	37,1	50,6	61,7	71,1	79,1	85,4	90,9	95,7	100,0	gefunden
	(19,5	35,8)	50,6	61,6	71,1	79,1	85,3	90,9	95,8	100,0	berechnet
Cs : Bs : Es = 3,1 : 10 : 2 also 1,36 Cs + 4,41 Bs + 0,88 Es = 6,65											
II. Fraktion	0,425	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,425	0,450	0,525	0,675	
	0,425	0,825	1,225	1,625	2,025	2,425	2,850	3,300	3,825	4,500	6,570
	9,4	18,3	27,2	36,1	45,0	53,9	63,3	73,3	85,0	100,0	gefunden
	9,2	18,3	27,2	36,2	45,0	53,1	63,2	73,4	85,1	100,0	berechnet
Bs : Es : As = 1 : 1 : 2 (also 1,13 Bs + 1,13 Es + 2,24 As = 4,50 in 100 ccm und 1,15 Bs + 1,42 Es + 4,00 As = 6,57 in 110 ccm In 200 g Käse Summa: 1,36 Cs + 5,56 Bs + 2,30 Es + 4,00 As = 13,22 In 100 g Käse Summa: 0,68 Cs + 2,78 Bs + 1,15 Es + 2,0 As = 6,61 = D. Z.											

Wie man sieht, enthielt der vorliegende Camembertkäse keine Propionsäure, wenig Essigsäure und verhältnismäßig viel Ameisensäure. Die innere Masse dieser Käsesorte bleibt offenbar bis zum Eintritt der Reifung so sauer, daß die Milchsäurefermente darin nicht im stande sind, die Milchsäure weiter zu vergären. Ähnliche Resultate lieferte der Brickkäse, wie aus folgender Tabelle hervorgeht.

Tabelle XXXII.

	Im Käse Proz. Fett	Im Fette Säurezahl d. n. f. Fettsäuren	Von der Fettpaltung kann herrühren		Gefunden				D.Z.
			Capron- säure	Butter- säure	Capron- säure	Butter- säure	Essig- säure	Ameisen- säure	
Inneres	23,20	7	1	2	1,2	6,5	3,4	0,2	11,3
Äußeres	22,70	55,8	8	16	1,1	5,3	2,0	0,3	8,7

Diese Tabelle zeigt, daß der Brickkäse kaum so viel Capron- und Buttersäure in den äußeren Schichten als in der inneren Masse enthält, und dies trotzdem die Fettpaltung hauptsächlich an der Oberfläche vor sich geht (vergl. vorn). Die hier gebildeten flüchtigen Säuren diffundieren nämlich in Form von Ammoniaksalzen hinein oder werden von den Schimmelpilzen verbrannt. Der Verlauf ist ähnlich wie beim Ranzigwerden der Butter; der Unterschied zwischen den biologischen Vorgängen in einem Brickkäse und einem flachen Stück Butter beruht wesentlich auf dem verschiedenen Verhältnis der einzelnen Milchbestandteile, daher ist zu viel Fett im Brickkäse nicht erwünscht¹⁾, dieser nähert sich dann im reifen Zustande zu sehr der ranzigen Butter.

Backsteinkäse nach Limburgerart.

Wie bereits erwähnt, ist schon 1845 Valeriansäure von Iljenko und Laskowski im Limburgerkäse nachgewiesen worden. Zu diesem Zwecke wurden 50 Pfund stark riechender Limburgerkäse in einer Destillierblase mit einer hinreichenden Menge destillierten Wassers der Destillation unterworfen. Das verdunstete Wasser wurde von Zeit zu Zeit erneuert. Die Destillation dauerte mehrere Tage. Das Destillat, welches stark ammoniakalisch war, wurde mit Schwefelsäure übersättigt und wieder destilliert. Das zweite Destillat wurde mit Barytwasser neutralisiert und eingedunstet. Während des Eindampfens wurde wiederholt abgekühlt, damit alles kristallisierbare sich ausscheiden und entfernt werden konnte. Die Mutterlauge wurde noch einmal mit Schwefelsäure übersättigt und destilliert, und das so gewonnene, nach Baldriansäure riechende

1) Laut gütiger Mitteilung von Roger soll Milch mit 3,5 Proz. Fett für die Herstellung von Camembert- und Brickkäse am geeignetsten sein; was 3,8 Proz. Fett übersteigt, wirkt ungünstig und muß durch Abrahmung entfernt werden.

Destillat nach Neutralisierung mit Barytwasser zum Trocknen eingedunstet, wobei die sich bildenden Kristalle (die hauptsächlich aus buttersaurem Baryt bestanden) fortwährend entfernt wurden. Der Rückstand bildete eine gummiartige Masse, die sich nicht zum Kristallisieren bringen ließ. Aus einem Teil desselben wurde das Silbersalz dargestellt, welches 51,77 Proz. Ag enthielt (der Silbergehalt des valeriansauren Silbers ist 51,67 Proz.), und aus einem anderen Teil wurde die freie Säure durch Destillation mit Phosphorsäure gewonnen. Sie schwamm auf dem Wasser und löste sich in größeren Mengen desselben, was für Valeriansäure spricht. Inwiefern diese Valeriansäure die normale oder die Isosäure war, ist indessen nie (durch Siedepunktsbestimmungen und durch das Verhalten der Kalksalze) festgestellt worden. Iljenko und Laskowski nennen sie bloß dem Geruche nach Baldriansäure, also Isovaleriansäure; aus dem Geruche der Käsedestillate, die auch andere Fettsäuren enthalten, ist es aber nicht möglich, mit Sicherheit etwas zu schließen, denn ein Gemisch von Capronsäure und Buttersäure riecht auch nach Isovaleriansäure, währenddem die normale Valeriansäure mehr nach reiner Buttersäure riecht. Aus ihren Untersuchungen schließen Iljenko und Laskowski, daß die Hauptmenge der flüchtigen Säuren im Limburgerkäse aus Baldriansäure besteht und daß demnächst Buttersäure vorherrscht. Dieser Schluß ist jedoch nicht richtig, denn wenn man eine Käsemasse ohne Säurezusatz destilliert, so gewinnt man verhältnismäßig mehr von den schwächsten flüchtigen Säuren, als von den stärkeren und von den allerstärksten gewöhnlich gar nichts. In Wirklichkeit enthalten, wie wir bald sehen werden, die Limburgerkäse gewöhnlich mehr Propionsäure und öfters auch mehr Butter- und Essigsäure als Valeriansäure. Propionsäure, deren Vorkommen im Limburgerkäse (im Käse No. 5, Tabelle XXXIV) ich in ähnlicher Weise wie im Emmentalerkäse festgestellt habe, kann über die Hälfte der Gesamtmenge der flüchtigen Säuren ausmachen.

Als erstes Beispiel werde ich einen Käse mit verhältnismäßig viel Buttersäure besprechen. Dieser war ein vollfetter und vollreifer Allgäuer Romadurkäse¹⁾ (eine der feinsten Marken). Die Analyse bezieht sich nur auf die innere butterähnliche Masse. Diese enthielt 23,1 Proz. Fett, und das Fett hatte die (reduzierte) Säurezahl der nicht flüchtigen Fettsäuren von 44, woraus sich berechnen läßt, daß die von der Fettspaltung herrührende, in 100 g Käse vorhandene Capron- und Buttersäuremenge 6,4 bzw. 12,8 ccm $\frac{n}{10}$ Lauge entsprechen. Die Destillationszahl des vorliegenden Käses betrug 90,5. In nachfolgender Tabelle sind die Analysen der Silbersalze der aus 150 g Käse gewonnenen flüchtigen Säuren zusammengestellt.

1) Romadur- oder Remondenkäse sollten nach dem Ursprung ihres Namens (remoudre, welches sich auf die zuletzt gemolkene fetteste Milch beziehen soll) immer sehr fette Käse sein. Sie werden etwas kleiner als die eigentlichen Limburgerkäse gemacht.

Tabelle XXXIII.

Nummer der Fraktion	Verwendete Anzahl ccm normal Silberlösung	Milligramm Silbersalz	Proz. Silber in den Silbersalzen	Der Silbergehalt entspricht folgenden Gewichtsverhältnissen	Aus den Gewichtsverhältnissen lassen sich folgende Anzahl Milligramm der einzelnen Silbersalze berechnen		
					Capron-saures Silber	Valerian-saures Silber	Butter-saures Silber
I	3	420,0	50,7	Cs Ag : Vs Ag : Bs Ag 4 : 5 : 1	168,0	210,0	42,0
II	3	290,8	52,9	Vs Ag : Bs Ag 2 : 1	—	193,8	97,0
III	3	236,4	54,1	Vs Ag : Bs Ag 2 : 1	—	78,8	157,6
IV + V	3 + 3	227,2	55,3	Reines buttersaures Silber	—	—	227,2
Die 65 ccm Wasser können bei 20° C in Lösung halten:					50,7	120,3	315,3
Summa					218,7	602,9	839,1
Das Gewicht der einzelnen Silbersalze entspricht ccm $\frac{n}{10}$ Säure:					9,8	28,8	43,0
Die ccm $\frac{n}{10}$ Säure auf 100 g Käse umgerechnet:					6,5	19,2	28,6

Wie man sieht, haben sämtliche in dieser Tabelle aufgeführten Fraktionen, mit Ausnahme der letzten (oder der letzten zwei Fraktionen, die gemischt wurden, weil sie klein waren), einen niedrigeren Silbergehalt als buttersaures Silber, sie enthalten deshalb beträchtliche Mengen einer Säure von höherem Molekulargewicht als Buttersäure, und nach den Untersuchungen von Iljenko und Laskowski haben wir keinen Grund, zu bezweifeln, daß diese Säure in der Hauptsache aus Valeriansäure besteht. In der Tabelle XXXIII sind daher auch die drei ersten Fraktionen als Gemische von buttersaurem und valeriansaurem Silber aufgefaßt und nur soviel capronsaures Silber mit in Rechnung gebracht, als der von der Fettspaltung herrührenden Capronsäure entspricht. Es ist jedoch nicht ausgeschlossen, daß die Limburgerkäse mehr Capronsäure enthalten, denn diese Säure kann auch als Nebenprodukt verschiedener Gärungen auftreten. Ich muß mich indessen, um bei sämtlichen Limburgerkäsen konsequent zu bleiben, an die obere Rechnungsweise halten, denn meine Methoden (die Verhältniszahlen der Valeriansäure und der Capronsäure nähern sich nämlich, besonders in den höheren Gliedern, sehr stark einander) reichen nicht aus, um in den vorliegenden komplizierten Gemischen die Menge der Valeriansäure und der Capronsäure genau zu bestimmen; man darf dann nur nicht vergessen, daß ein kleiner Teil der gefundenen Valeriansäure vielleicht Capronsäure sei.

Nachfolgend die Ergebnisse der Duclauxschen Methode auf die flüchtigen Säuren von 100 g der vorliegenden Käsemasse angewendet.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
I. Fraktion	5,000 24,6	3,900 43,7	3,050 58,7	2,375 70,4	1,800 79,4	1,400 86,1	1,400 91,2	0,775 95,1	0,600 98,0	0,400 100,0	
II. Fraktion	4,625 23,7 24,1 23,9	3,675 8,300 43,0 43,3 43,1	2,925 11,225 58,1 58,4 58,5	2,300 13,525 70,0 70,2 70,3	1,700 15,225 78,8 79,1 79,2	1,375 16,600 85,9 86,0 86,0	1,000 17,600 91,1 91,1 91,0	0,775 18,375 95,0 95,0 95,0	0,575 18,950 98,0 98,0 98,0	0,375 19,325 100,0 Mittel der I. und II. Fraktion. berechnet == 39,675	
III. Fraktion	4,050 4,050 19,1 19,0	3,450 7,500 35,3 35,3	3,000 10,500 49,5 49,5	2,550 13,050 61,5 61,5	2,175 15,225 71,7 71,7	1,800 17,025 80,2 80,1	1,500 18,525 87,3 86,8	1,200 19,725 92,9 92,5	0,900 20,625 97,2 96,8	0,600 21,225 100,0 100,0	gefunden berechnet == 21,225
IV. Fraktion	3,050 3,050 15,3 15,2	2,750 5,800 29,0 29,0	2,500 8,300 41,4 41,4	2,250 10,550 52,8 52,8	2,000 12,550 62,8 62,9	1,775 14,325 71,7 71,8	1,600 15,925 79,7 79,7	1,475 17,400 87,1 87,1	1,350 18,750 93,9 93,9	1,225 19,975 100,0 100,0	gefunden berechnet == 19,975
V. Fraktion	0,650 0,650 9,4 9,3	0,625 1,275 18,5 18,5	0,625 1,900 27,6 27,5	0,600 2,500 36,4 36,5	0,600 3,100 45,1 45,3	0,625 3,725 54,2 54,4	0,650 4,375 63,6 63,4	0,675 5,050 73,5 73,6	0,800 5,850 85,1 85,3	1,025 6,875 100,0 100,0	gefunden berechnet == 6,88 As = 9,5 As = 90,5 = D.Z.
Cs: Vs: Bs: Ps: = 1,2:2,5:3:0,6, also 6,5 Cs + 13,6 Vs + 16,275 Bs + 3,3 Ps Vs: Bs: Ps: Es: = 0,2:1,3:0,7:0,5, also 1,48 Vs + 9,615 Bs + 5,18 Ps + 3,7 Es											
Summa: 6,5 Cs + 19 Vs + 41,5 Bs + 12,5 Ps + 5 Es + 6 As = 90,5 = D.Z.											

Da die Verhältniszahlen der ersten und zweiten Hauptfraktion so wenig voneinander abweichen, habe ich nur das Mittel dieser zwei Zahlenreihen gedeutet. Da im untersuchten Limburgerkäse die höheren flüchtigen Fettsäuren stark vorherrschen, kommen sie selbst in den letzten Fraktionen vor, weshalb man vielleicht meinen könnte, daß mit den vielen Fraktionen nichts erreicht wäre. Dieses ist jedoch keineswegs der Fall, denn die vielen Fraktionen machen das Resultat sicherer, indem die möglichen Deutungen einer Reihe von Verhältniszahlen gewöhnlich auf eine einzige dadurch reduziert werden, daß das Verhältnis zwischen einer höheren und einer niedrigen Säure in einer Fraktion kleiner oder wenigstens nicht größer als in der vorhergehenden Fraktion und größer oder wenigstens nicht kleiner als in der nachfolgenden Fraktion sein muß. Die richtige Deutung einer Fraktion läßt sich daher nur im Zusammenhang mit der Deutung der anderen Fraktionen, und zwar unter Berücksichtigung der Resultate der Silbersalzanalysen ausführen. Diese Untersuchungen zeigen, daß der vorliegende Limburgerkäse neben Valeriansäure 3mal soviel Buttersäure enthält, als nach unserer Berechnung von der Fettspaltung herrühren kann.

Tabelle XXXIV gibt die analytischen Daten dreier anderen Romadurkäse wieder. Die zwei ersten (No. 5 und 6) waren auch vollfette Algäuerkäse, nur waren sie, obwohl konsumfähig, nicht ganz so reif wie der zuerst untersuchte. Der dritte Käse (No. 7) war württembergischer Herkunft und nur wenig gereift, die Masse war dazu schwach bläulich und hatte einen faulen, vom Limburgerkäse etwas abweichenden Geruch.

Tabelle XXXIV.

Käse- nummer		Im Käse Proz. Fett	Im Fett Säurezahl d. n. f. Fettsäuren	Von der Fett- spaltung kann herrühren		Gefunden						D. Z.
				Capron- säure	Butter- säure	Capron- säure	Valerian- säure	Butter- säure	Propion- säure	Essig- säure	Ameisen- säure	
5	Inneres	19,80	6,5	1,0	2,0	1,0	2,5	10,5	43,0	13,5	1,0	71,5
6	Inneres	18,00	4,0	0,5	1,0	0,5	15,5	5,0	70,0	19,0	1,0	111,0
	Außeres	21,00	46,0	6,0	12,0	2,0	15,2	11,4	61,2	13,7	1,0	104,5
7	Inneres	15,81	7,0	0,7	1,4	0,7	67,3	8,0	129,0	59,0	1,0	265,0

Vorstehende Tabelle zeigt, daß auch diese drei Käse mehr Buttersäure enthalten, als nach unserer Berechnung von der Fettspaltung herrühren kann. Es ist indessen nicht zu vergessen, daß man bei dieser Berechnung von der Voraussetzung ausgeht, daß im Käsefette sämtliche Glyceride von der Fettspaltung gleich stark betroffen werden. Da diese Voraussetzung für Roquefortkäse nicht ganz zutrifft, ist die Möglichkeit vorhanden, daß es Käsesorten gibt, für welche sie noch weniger zutrifft, und daß z. B. im Limburgerkäse besonders die Glyceride der flüchtigen Säuren gespalten werden.

Ist dieses der Fall, so kann natürlicherweise die ganze Buttersäuremenge im Limburgerkäse ganz gut aus dem Käsefett entstanden sein. Zu Gunsten dieser Annahme spricht der Umstand, daß in sämtlichen untersuchten Limburgerkäsen die Menge der gefundenen Buttersäure annähernd mit der Menge der berechneten Buttersäure proportional ist (die Rindenschicht, in welcher ein Teil der gebildeten Säuren wieder verschwindet, entzieht sich, wie bereits ausführlich erklärt, allen Berechnungen) und dagegen in keinem Verhältnis zu der Valeriansäure steht. Die Möglichkeit, daß im Limburgerkäse eine wirkliche Buttersäuregärung stattfindet, läßt sich jedoch, so lange die in dieser Käsesorte vor sich gehende Fettspaltung nicht genau studiert ist, nicht mit derselben Sicherheit wie bei den anderen Labkäsen zurückweisen. Was die in Frage stehende Fettspaltung betrifft, so findet sie nie im weißen Kern, sondern nur in der Speckschicht, und zwar etwas später als die Umbildung des Parakaseins, statt. Eine sehr starke Fettspaltung, wie diejenige in dem zuerst untersuchten Limburgerkäse, tritt, wie bei den meisten anderen Käsesorten, erst auf, wenn der Käse überreif wird, und dies geschieht bei den Weichkäsen sehr schnell, wenn sie bei einer Temperatur über 18° C aufbewahrt werden.

Aus vorliegenden Untersuchungen geht hervor, daß im Limburgerkäse Gärungen stattfinden, durch welche Valeriansäure, Propionsäure und Essigsäure entstehen. Interessant ist es, daß Fitz¹⁾, der die Propion-Essigsäuregärung des milchsauren Kalks entdeckt hat, auch eine Propion-Valeriansäuregärung des milchsauren Kalks beobachtete. Fitz lieferte ferner den Beweis dafür, daß die in dieser Weise gebildete Valeriansäure die normale war, während diejenige, welche als Eiweißzersetzungsprodukt entsteht, bekanntlich Isovaleriansäure ist. Es ist mir nicht gelungen, aus Limburgerkäse ganz reine Valeriansäure in solchen Mengen zu gewinnen, daß ich sie in dieser Hinsicht hätte identifizieren können; die Tatsache aber, daß von den untersuchten Limburgerkäsen derjenige (der mißratene Käse No. 7), welcher am wenigsten reif war, am meisten Valeriansäure enthielt, spricht nicht dafür, daß diese Valeriansäure ein Eiweißzersetzungsprodukt sei, sondern dafür, daß sie durch eine vom eigentlichen Reifungsvorgang nicht unbedingt abhängige Gärung (der milchsauren Salze) entstehe, und somit normale Valeriansäure sei. Nicht nur durch seinen Gehalt an Valeriansäure nimmt der Limburgerkäse eine Sonderstellung ein, sondern er ist auch der einzige Labkäse, in welchem wirkliche Fäulniserscheinungen, wie Indolbildung etc., vor sich gehen. Die Indolreaktion ist stärker in den von den äußeren Schichten herrührenden Destillaten als in denjenigen der inneren Masse, die Fäulnis schreitet also, wie der eigentliche Reifungsvorgang, von außen nach innen. Auch Schwefelwasserstoff wird in den Limburgerkäsen gebildet. Letztere Erscheinung macht sich dadurch deutlich bemerkbar, daß das nie bleifreie Staniol, in

1) Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft. Bd. XIII. 1904. p. 1310 und Bd. XIV. p. 1084.

welchem diese Käsesorte für den Konsum gewöhnlich verpackt wird, fast immer an verschiedenen Orten schwarz und bisweilen sogar vollständig in bröckeliges Schwefelmetall umgebildet wird. Der unangenehme Geruch der Limburgerkäse rührt somit nicht nur von Fettsäuren und Ammoniak, sondern auch von echten Fäulnisprodukten her.

Von welchen Mikroorganismen diese verschiedenen Gärungen verursacht werden, wissen wir mit Sicherheit nicht. Nach den Untersuchungen von Laxa¹⁾ sollen bei der Reifung zweier böhmischer, nach Limburgerart zubereiteten Käsen, Harrach- und Konopistekäse, *Oidium lactis* im Verein mit gewissen Bacillen die Hauptrolle spielen. In den echten Limburgerkäsen, d. h. in den in Limburg fabrizierten, und in den ebenso guten allgäuischen Nachahmungen trifft man indessen selten Mikroorganismen an, die sich mit den von Laxa beschriebenen identifizieren lassen. Nur *Oidium lactis* kommt dann und wann an der Oberfläche junger Limburgerkäse vor, und es mag sein, daß dieser Pilz sich an der Fettspaltung beteiligt. Das bei den Limburgerkäsen übliche feuchte Abwischen, das Schmieren, wirkt jedoch stark hemmend auf das Wachstum von Oidien und anderen Schimmelpilzen, begünstigt aber die Entwicklung der Bakterien. Demgemäß besteht „die Schmiere“ wesentlich aus Bakterien und nach den noch nicht veröffentlichten Untersuchungen v. Freudenreichs vorherrschend aus einer Art, die ich *Bacillus casei limburgensis* Freudenreich nennen werde. Dieser Bacillus muß eine große Rolle bei der Reifung des Limburgerkäses spielen, denn mit Ausnahme der vom Pepsin verursachten Veränderungen des Parakaseïns (s. meine Arbeit über die Enzyme im Käse, Centralblatt f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 795) gehen in dieser Käsesorte alle anderen Gärungserscheinungen von der Schmiere aus.

Aus der Tabelle I ersieht man, daß in einem reifen Limburgerkäse fast die ganze Menge der N-haltigen Substanzen in Wasser löslich ist. Die starke Ammoniakbildung ausgenommen, findet hierin sonst keine tiefgehende Eiweißzersetzung statt, indem $\frac{3}{4}$ des Parakaseïns nur in primäre Albumosen umgebildet werden, die mit Essigsäure leicht fällbar sind. Die Umbildungen, welche *Bacillus casei limburgensis* im Kaseïn und Parakaseïn hervorruft, stimmen vollständig mit dem Reifungsvorgang des Limburgerkäses überein. Die Milch bildet er nämlich (ohne sie vorher zur Gerinnung zu bringen) in kurzer Zeit in eine durchscheinende, braunrote, leicht schäumende, alkalische und seifig schmeckende Flüssigkeit um. Durch Zusatz von Essigsäure wird diese Flüssigkeit wieder weiß und gibt eine starke Ausscheidung. Nach Kochen findet man im Filtrate genau so viel L. N. als in der ursprünglichen Milch. *Bacillus casei limburgensis* bildet somit keine Spur von Peptonen und Aminosäuren. Nur in einem Falle gelang es mir, die Flüssigkeit ohne vorheriges Kochen mit Essigsäure klar zu filtrieren; das Filtrat enthielt dann

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. V. 1899. p. 755.

über 40 Proz. L. N., was beweist, daß ein großer Teil des Kaseins gelöst war. Die alkalische Reaktion und der seifige Geschmack rühren von einer kleinen Menge Ammoniak her. Diese entsteht nicht aus den Eiweißkörpern der Milch, sondern wird, wie die genaue Analyse zeigt, auf Kosten der geringen Menge in frischer Milch immer vorhandenen Eiweißzersetzungsprodukte gebildet. Die Menge des Z. N. der Milch nimmt nämlich durch Einimpfen von *Bacillus casei limburgensis* immer ab. Tabelle XXXV zeigt das Verhalten von *Bacillus casei limburgensis* gegenüber Kasein und Parakasein, teils allein, teils im Verein mit *Micrococcus casei liquefaciens* oder mit Milchsäurefermenten.

Tabelle XXXV.

Eingeimpfte Bakterien	Milch- nummer	Aufbewahrungs- temperatur	Alter zur Zeit der Untersuchung	Gefundene Mengen			Gebildete Mengen					
				L. N.	Z. N.	A. N.	L. N.	Z. N.	A. N.	Z. N. in Proz. des L. N.	A. N. in Proz. des L. N.	
Bacillus casei limburgensis	1 ohne Kreide	35° C	4 Monate	16,66	2,79	1,89	1,26	— 1,50	1,13			
desgl.	1 " "	20° C	5 "	14,90	3,54	1,36	— 0,30	— 0,75	0,60			
desgl.	5 " "	20° C	2 "	12,73	3,64	1,82	0,60	— 2,36	1,30			
desgl.	5 gelabt, ohne Kreide	20° C	2 "	16,66	4,55	2,12	0,00	— 1,41	1,60			
Bacillus casei limburgensis + Micrococcus casei lique- faciens	5 ohne Kreide	20° C	2 "	91,52	37,88	9,82	78,28	31,88	9,30	40,73	11,88	
desgl.	4 gelabt, ohne Kreide	20° C	3 "	96,06	34,08	9,06	81,13	27,88	8,65	34,37	10,66	
desgl.	2 ohne Kreide	20° C	5 "	80,46	37,70	15,86	67,59	32,18	14,99	47,61	22,18	
Bacillus casei limburgensis + Bacterium lactis acidi	2 " "	20° C	5 "	13,10	4,83	1,44	0,23	— 0,67	0,57			
desgl.	3 mit Kreide	20° C	5 "	24,22	5,07	1,63	10,42	— 0,28	0,38			
Bacillus casei limburgensis + Bacillus α + Bacterium lactis acidi	4 gelabt, ohne Kreide	20° C	3 "	38,31	18,87	7,78	23,38	12,38	7,37	52,59	31,52	
Bacillus casei limburgensis + Micrococcus casei lique- faciens + Bacterium lactis acidi	2 ohne Kreide	20° C	5 "	13,33	2,23	0,87	0,50	— 2,29	0,04			
desgl.	2 mit Kreide	20° C	5 "	59,54	32,18	11,89	46,67	26,66	11,02	57,13	23,61	

Vergleicht man die vorstehende Tabelle mit der Tabelle IX (Milch No. 2 ohne Kreide bei 20° C), so sieht man, daß in den

Milchkulturen *Bacillus casei limburgensis* mit *Micrococcus casei liquefaciens* 4mal so viel Z.N. und 10mal so viel A.N. entstehen als in den Reinkulturen der letzteren Bakterie. Durch Symbiose zweier Bakterien, die jede für sich nicht die Fähigkeit haben, die Eiweißkörper tief zu zersetzen, ist also eine tiefgehende Proteolyse zu stande gebracht. Dies zeigt, daß es unmöglich ist, die Gesamtwirkung mehrerer Organismen auf ein Nährsubstrat zu berechnen, wenn auch die Wirkung der einzelnen Mikroorganismen auf dieses Substrat bekannt ist.

Auch im Verein mit *Bacillus casei* α bildet *Bacillus casei limburgensis* viel Ammoniak, so daß es den Anschein hat, daß letzterer *Bacillus* überhaupt ein kräftiger Ammoniakbildner ist, wenn er nur Eiweißzersetzungsprodukte zur Verfügung hat. Da man auf Limburgerkäsen nach den Untersuchungen v. Freudenreichs immer eine kleine Anzahl verflüssigender Mikroorganismen (besonders *Micrococcus casei liquefaciens*, einen kleinen, nicht sporenbildenden *Bacillus* und Hefe) antrifft, so läßt sich nicht bezweifeln, daß die große Menge Ammoniak, die für diese Käsesorte charakteristisch ist, von *Bacillus casei limburgensis* erzeugt wird.

Ich möchte in diesem Zusammenhange daran erinnern, daß ich bereits in meiner Arbeit über die Enzyme im Käse (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. 1900. p. 113, Tab. XV) nachgewiesen habe, daß das Ammoniak im Limburgerkäse oder die für seine Entstehung nötigen Zersetzungsprodukte (Zwischenstufen) nur in der Schmiere gebildet werden und von hier in das Innere hineindiffundieren.

In meiner Arbeit „Studien über das Ranzigwerden der Butter“¹⁾ habe ich gezeigt, das *Bacillus casei limburgensis* nur eine äußerst schwache Fettspaltung hervorrufen kann. Glycerin und Milchzucker greift er nicht an. Aus letzterem Grunde bildet sie in Reinkulturen in Milch keine flüchtigen Säuren. Tab. XXXVI zeigt die in Mischkulturen vor sich gehende Säurebildung.

(Siehe Tabelle XXXVI p. 705.)

Bacillus casei limburgensis bildet an der Oberfläche aller Kulturen, in welchen milchsaure Salze entstehen, nach wenigen Tagen eine dünne, weiße Haut, die allmählich dicker und gelblich wird und somit vollständig an die Schmiere der Limburgerkäse erinnert. Schüttelt man die Kulturen häufig, wie es notwendig ist, wenn man die gebildete Milchsäure mit der zugesetzten Kreide neutralisieren will, so zerstört man natürlicherweise diese Haut. Von den mit Kreide versetzten Kulturen unterließ ich, die 3 mit einem * bezeichneten zu schütteln, was die Vergärung des Milchzuckers verzögerte, gleichwohl aber, wie die Tabelle XXXVI zeigt, eine weit stärkere Bildung von flüchtigen Säuren zur Folge hatte. Diese Säuren bestanden, wie bei den Milchsäurefermenten, hauptsächlich aus Essigsäure und einer kleinen Menge Propionsäure. Nur in der 5 Monate alten, mit Kreide versetzten Mischkultur von *Bacillus casei limburgensis*, *Micrococcus casei lique-*

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 213.

Tabelle XXXVI.

Eingeimpfte Bakterien	Milchnummer	Aufbewahrungstemp.	Alter zur Zeit der Untersuchung	Vergorener Milchzucker in Proz. des ursprünglichen Milchzuckers	Säuregrad in $\frac{n}{10}$ Lange	D. Z.	Es:Ps	Sonstige flüchtige Säuren
Bacillus casei limburgensis + Micrococcus casei liquefaciens	5 ohne Kreide	20° C	2 Monate	Die Hauptmenge zurück	Schwach sauer	21,5	7	
do.	2 ohne Kreide	20° C	5 Monate	24,5	Alkalisch	38,0	7	Eine Spur Valeriansäure
Bacillus casei limburgensis + Bacterium lactis acidi	2 ohne Kreide	20° C	5 Monate	11,7	35	5,0		
do.	3 mit Kreide*	20° C	5 Monate	75,0	Schwach sauer	85,0	7	Eine Spur Ameisensäure
Bacillus casei limburgensis + Bacillus α + Bacterium lactis acidi	4 gelabt mit Kreide*	20° C	3 Monate	Eine Spur zurück	Alkalisch	117,0	15	do.
Bacillus casei limburgensis + Micrococcus casei liquefaciens + Bacterium lactis acidi	2 ohne Kreide	20° C	5 Monate	13,0	39	26,0	7	Eine Spur Valeriansäure und Ameisensäure
do.	2 mit Kreide	20° C	5 Monate	100,0	Alkalisch	30,0	7	Vs:Ps:Es = 1:1:7
do.	5 mit Kreide*	20° C	2 Monate	Eine Spur zurück	Schwach sauer	60,0	7	

faciens und Bacterium lactis acidi ließ sich etwas mehr als eine Spur Valeriansäure und deutliche Mengen Schwefelwasserstoff nachweisen, sie hatte dazu noch einen faulen, nicht nur von Schwefelammonium herrührenden Geruch. Leider wurde die Prüfung auf Indol versäumt. Da nur in dieser Kultur, in welcher der Milchzucker total vergoren war, Gestank auftrat, ist es anzunehmen, daß in den anderen Kulturen, die noch alle Milchzucker enthielten, dieser die Bildung von übelriechenden Produkten verhindert hat. Da der Milchzucker nach ungefähr 14 Tagen in den Limburgerkäsen verschwunden ist, so steht der Annahme nichts entgegen, daß Bacillus casei limburgensis nach dieser Zeit darin Gestank hervorrufen kann. Die Möglichkeit ist aber auch nicht ausgeschlossen, daß die in allen Milchprodukten anwesenden Coli-Bakterien sich an der Bildung von Indol und anderen übelriechenden Stoffen beteiligen.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber Nitrifikation und Denitrifikation in der Ackererde.

[Mitteilung aus dem bakteriologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig.]

Von Dr. F. Löhnis.

Winogradsky hat in der in diesem Blatte¹⁾ erschienenen Abhandlung, in der er über die von ihm in Gemeinschaft mit Omelianski ausgeführten Versuche über den Einfluß organischer Substanzen und des Ammoniaks auf den Verlauf der Salpeterbildung berichtet, auf Grund der erlangten Resultate folgende zwei Sätze aufgestellt²⁾:

I. Das Nitratmikrobium „tritt erst in Tätigkeit, wenn die Nitritperiode ganz zu Ende ist. Wegen ihrer außerordentlichen Empfindlichkeit gegen die geringsten Spuren von Ammoniak bleiben seine Keime in Ruhe bis zum vollständigen Verschwinden dieses Körpers. Erst dann beginnt ihre Tätigkeit, nach mehr oder weniger langer Inkubation.“

II. „Was die Gefahren der Denitrifikation betrifft, so sind sie nicht groß, weil eben die Denitrifikatoren ihre Wirkung nur auf Kosten der organischen Substanzen ausüben können, welche beim Beginn der Salpeterbildung schon zerstört sind. Die betreffenden Organismen sind also notwendigerweise zur Untätigkeit verdammt.“

An den ersten Satz knüpft der genannte Autor folgende Betrachtung: „Worin besteht der Vorteil dieser letzten Einrichtung hinsichtlich des Ertrags an Produkten der Nitrifikation und ihrer Sicherheit? Dies ist noch schwer mit Gewißheit zu sagen, aber man kann glauben, daß je mehr die Bildung eines so leicht reduzierbaren Körpers, wie das Nitrat an eben den Stellen, wo intensive Nitrifikation stattfindet, verzögert wird, daß der gebildete Salpeter sich erhält und durch Verbreitung im Boden seine wichtige Aufgabe erfüllt.“

Die schönen Ergebnisse der in jener Arbeit besprochenen, umfangreichen Untersuchungen haben diesen beiden Sätzen eine so überzeugende Kraft verliehen, daß dieselben von hier aus, so weit ich sehe, in alle bakteriologischen Lehrbücher und sonstigen Abhandlungen, die sich mit den Fragen der Nitrifikation und Denitrifikation befassen, übergegangen sind.

So schreibt z. B. Migula³⁾, daß im Erdboden die Nitrifikation erst einsetzen könne, wenn die vorhandenen Substanzen völlig zersetzt seien, und daß die Tätigkeit des Nitratbildners erst

1) Winogradsky und Omeliansky, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. V. 1899. p. 329.

2) l. c. p. 439.

3) Migula in den von ihm herausgegebenen De Barys Vorlesungen. 3. Aufl. 1900. p. 105, und Migula, Die Bakterien. 2. Aufl. 1903. p. 161.

dann beginne, wenn sämtliche Ammoniakverbindungen in salpetrige Säuren übergeführt seien.

Lemmermann zitiert in seinen „Kritischen Studien über Denitrifikationsvorgänge“¹⁾ den zweiten Satz Winogradskys als Stütze seiner Ansicht in Bezug auf die geringe Bedeutung, welche der Denitrifikation im Boden beizumessen ist.

Auch nach J. Behrens²⁾ ist das differente Verhalten der nitrifizierenden und der denitrifizierenden Mikroorganismen gegenüber den organischen Substanzen von großer Wichtigkeit.

Günther³⁾ schreibt, daß die Nitratbildner in Gegenwart von Ammoniak nicht existieren können.

Schmidt und Weis⁴⁾ sagen, daß die Ammoniakverbindungen als ein kräftiges Gift auf die Nitratbakterien einwirken.

A. Fischer⁵⁾ hält zwar die Annahme für nicht unberechtigt, die dahin geht, daß infolge der eigentümlichen Konstruktion des Bodens in demselben „Gruppen von Räumchen gegenüber den anderen etwas mehr abgesperrt seien“, und infolgedessen „in solchen kleinen Territorien . . . Fäulnis und Nitrifikation unabhängig von der Nachbarschaft“ verlaufen können; indessen fährt er fort: „Im allgemeinen wird es aber richtiger sein, anzunehmen, daß durch die ganze Ackerkrume hindurch der Prozeß gleichmäßig verläuft. Der ersten Periode der ausschließlichen Ammoniakbildung folgt die zweite der Nitritbildung und ihr die dritte der Salpeterisierung.“

Diesen und ähnlichen Ausführungen gegenüber erscheint es am Platze, einmal darauf hinzuweisen, daß den beiden Winogradskyschen Sätzen keineswegs die generelle Bedeutung zukommt, die ihnen in der Tat beigelegt wird, und die ihnen beizulegen man nach ihrem Wortlaute allerdings berechtigt zu sein scheint. Es muß daran erinnert werden, daß die Bildung des Nitrates im Boden unabhängig von den vorhandenen Ammoniakverbindungen verläuft, und was die organischen Substanzen anlangt, Denitrifikation und Nitrifikation allerdings zu gleicher Zeit im Acker stattfinden könnten, wenn nicht durch andere Umstände die zuerst genannte Umsetzung ausgeschaltet würde.

I.

Hinsichtlich des ersten Punktes dürfte man doch nach allen bisher veröffentlichten Untersuchungsergebnissen zweifellos berechtigt sein, als allgemein bekannt voraussetzen zu dürfen, daß die Salpeterbildung in der Ackerkrume durchaus nicht in der Weise

1) l. c. 1900. p. 83.

2) Behrens, Neuere Fortschritte in Wirtschaftsbetrieb und Bodenkultur. Vorträge. 1901. p. 127, und Mitteilungen der deutschen landwirtsch. Gesellschaft. 1904. p. 184.

3) Günther, Einf. in d. Studium d. Bakteriologie. 5. Aufl. 2. Abdruck. 1902. p. 61.

4) Schmidt und Weis, Die Bakterien. 1902. p. 322.

5) Fischer, A., Vorlesungen. 2. Aufl. 1903. p. 189.

verläuft, daß Nitrit- und Nitratbildung aufeinander folgen, sondern daß vielmehr in der Regel beide Prozesse sich gleichzeitig nebeneinander abspielen. Allerdings haben die von Warington¹⁾, Jensen²⁾, Migula³⁾, Remy⁴⁾ und Ehrenberg⁵⁾ ausgeführten Untersuchungen gezeigt, daß in abnormen, sauren, kalkarmen Aeckern, sowie in humosen Wiesen-, Wald-, Heide- und Moorböden die Ueberführung des Nitrits in Nitrat eine Verzögerung erfahren kann. Im Ackerboden aber findet man, wie Lafar⁶⁾ schreibt, „unter normalen Verhältnissen nur die höchste Oxydationsstufe, das ist die Salpetersäure“. Auch Schmidt und Weis⁷⁾ sagen, daß „die Nitratbakterien . . im Erdboden . . die durch die Wirksamkeit der Nitritbakterien aus den Ammoniaksalzen gebildeten Nitrite sofort zu Nitraten weiter oxydieren“; wie aber mit diesem Satz der unmittelbar vorausgehende, daß die „Ammoniakverbindungen“ „Gifte“ für die Nitratbakterien seien, logisch zu verbinden ist, ist mir leider unbegreiflich.

Vor allem aber muß hervorgehoben werden, daß Winogradsky selbst früher⁸⁾ darauf hingewiesen hat, daß normale Erde bekanntlich nur Nitrate produziere und — selbst beim Vorhandensein relativ großer Ammoniakmengen — Nitrite nur ganz vorübergehend gebildet werden. Ferner konnte er beobachten, daß in steriler Erde, die gleichzeitig mit dem Nitrit- und dem Nitratbildner geimpft war, der Vorgang in nichts von dem natürlichen abwich, d. h. daß das Nitrit in dem Maße oxydiert wurde, wie es entstand, unabhängig von der Menge des restierenden Ammoniaksalzes. Und schließlich hat Winogradsky ebenfalls schon gefunden, daß man auch in künstlichen Nährlösungen nitrifizierende Kulturen in der Weise führen könne, daß ohne nachweisbare Nitritbildung direkt Nitrat entsteht⁹⁾.

Bei dieser Sachlage war es für mich in hohem Maße überraschend, daß trotz solcher Erfahrungen ein so ausgezeichnete Forscher zu der oben zitierten, ganz allgemein gehaltenen These gelangen konnte. Und selbst, wenn man dieselbe, was allerdings dem Wortlaut nach möglich ist, nur für die in der betreffenden Arbeit besprochenen Versuche gelten lassen wollte, so bleibt doch immer noch jene teleologische Frage nach dem Vorteil, den der zeitlich getrennte Verlauf von Nitrit- und Nitratbildung in sich birgt, „hinsichtlich des Ertrages an Produkten der Nitrifikation und

1) Warington, Chem. news. Bd. LXIII. 1891. Ref. Kochs Jahresber. Bd. II. p. 215.

2) Jensen, Tidsskrift for Landbrugets Planteavl. Bd. V. p. 173. Ref. Kochs Jahresber. Bd. X. p. 247.

3) Migula, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 370.

4) Remy, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 701.

5) Ehrenberg, Landw. Jahrb. Bd. XXXIII. 1904. p. 46.

6) Lafar, Techn. Mykologie. Bd. I. 1897. p. 339.

7) l. c.

8) Winogradsky, Annales de l'Inst. Pasteur. 1891. p. 577. Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. 1895. p. 82.

9) Zit. nach Burri und Stutzer, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. 1896. p. 116.

ihrer Sicherheit“ . . . „an eben den Stellen, wo intensive Nitrifikation stattfindet“. Da hierbei doch vor allem an den Boden gedacht werden muß, so ist es leicht erklärlich, daß sich die oben angeführten mit den tatsächlichen Vorgängen in der Natur in offenbarem Gegensatz stehenden Theorien in den Lehrbüchern Heimatsrechte erwarben.

Die zuletzt angeführte Beobachtung Winogradskys über die direkte Nitratbildung in Lösungen wurde mir erst bei der Literaturdurchsicht bekannt. Vorher hatten mir schon meine eigenen Versuche den Beweis erbracht, daß es nur auf die Versuchsbedingungen ankommt, ob das Nitrit in der Lösung erhalten bleibe oder nicht. Bereits früher¹⁾ erwähnte ich, daß ich in der mit Erde und Kreide versetzten Omelianskischen Ammonsulfatlösung (mit 1‰ statt 2‰ $[\text{NH}_4]_2\text{SO}_4$) nur ausnahmsweise Spuren von Nitrit nachweisen konnte. Die Bildung des Nitrates hatte stattgefunden, trotzdem noch beträchtliche Mengen Ammonsulfat (bis über 800 mg pro Liter = 1:1250) vorhanden waren. Dagegen fand sich sowohl in der Omelianski-Lösung, wie auch in dem von mir, zu meinen Untersuchungen über die Stickstoffumsetzungen im Boden regelmäßig benutzten Bodenextrakt (+ 1‰ $[\text{NH}_4]_2\text{SO}_4$ + 0,5‰ K_2HPO_4) nach 8-wöchiger Versuchsdauer nahezu sämtlicher oxydierter Stickstoff in Form von Nitrit stets dann vor, wenn ich an Stelle von Kreide nach Winogradskys Vorschrift basisches Magnesiumkarbonat verwendete. (Kreide hatte ich benutzt, weil das basische Magnesiumkarbonat während der langen Versuchsdauer so erhebliche Ammoniakverluste veranlaßt, daß ein quantitatives Arbeiten, wie ich es bei meinen Untersuchungen innehalte, unmöglich gemacht wird.) Auch Ehrenberg²⁾, der sich bei seinen Versuchen als Impfmaterialebenfalls der Erde bediente, im übrigen aber durchaus den Vorschriften Winogradskys und Omelianskis gefolgt ist, konnte bestätigen, daß, so lange noch mehr als ca. 100 mg Ammonsulfat pro Liter in der Lösung vorhanden seien, das Auftreten nennenswerter Mengen von Nitrat nicht beobachtet werden kann. Unter anderen Versuchsbedingungen gelangten dagegen Burri und Stutzer³⁾ zu (Roh-)Kulturen, in denen trotz noch vorhandener großer Ammoniakmengen direkt, ohne nachweisbares Auftreten von Nitrit Nitratbildung stattfand.

Die allgemein bekannt gewordenen Ergebnisse, welche Winogradsky und Omelianski⁴⁾ hinsichtlich der schädlichen Einwirkung des Ammoniaks auf den Nitratbildner erlangt haben, wurden allerdings bei Verwendung der Nitratlösung, die kein MgCO_3 enthält, gefunden. Die dieser Flüssigkeit beigegebene Soda (1‰) wirkt aber in ganz ähnlicher Weise: sie treibt Ammoniak aus, wie Winogradsky selbst hervorhebt⁵⁾. Uebrigens wird

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 455. Anmerkung.

2) Ehrenberg, l. c. p. 137.

3) Burri u. Stutzer, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. 1896. p. 115. 204.

4) l. c. p. 384.

5) l. c. p. 385.

auch an dieser Stelle gesagt, daß die Kulturen noch Ammoniak enthielten, „nachdem die Oxydation des Nitrats schon beendet war“.

Ueberblickt man die mitgeteilten Befunde, so scheint mir aus ihnen klar hervorzugehen, daß allerdings das freie Ammoniak und auch (wohl infolge seiner Zersetzlichkeit) das Ammonkarbonat in hohem Maße hemmend auf die Nitratbildung einwirken, die nichtflüchtigen Ammonsalze (speziell diejenigen mineralischer Säuren) dies aber in viel geringerem Grade tun.

Bereits Warrington¹⁾ hat konstatiert, daß das kohlen-saure Ammon auf den Nitratbildner einen sehr nachteiligen Einfluß ausübt. Er gründete auf diese Eigentümlichkeit ein Verfahren zur Trennung des nitritbildenden vom nitratbildenden Organismus. Allerdings fand er auch, daß von anderen Ammonsalzen, wenn dieselben in ziemlich hoher Konzentration verabreicht wurden, die Nitritbildung weniger gestört wurde als die Nitratbildung.

Conn²⁾ drückt sich insofern klar aus, als er nur von der schädlichen Wirkung des freien Ammoniaks redet, während er allerdings andererseits ebenso, wie die oben genannten Autoren, an der zeitlichen Aufeinanderfolge von Nitrit- und Nitratbildung im Boden festhält.

Winogradsky selbst spricht nur von „Ammoniak“ schlechtweg. Man könnte danach, sowie im Hinblick auf seine Äußerung³⁾, daß „das Ammoniak für die die Nitratbildung verzögernde Wirkung des Urins verantwortlich“ zu machen sei, sich zu der Annahme gedrängt fühlen, daß er ebenfalls nur dem freien bzw. dem kohlen-sauren Ammoniak die spezifisch schädliche Wirkung habe zuschreiben wollen. Dem widerspricht aber zunächst die der obigen Äußerung unmittelbar folgende Stelle, in der er der von Warrington vertretenen Ansicht beipflichtet, „daß die Oxydation des Nitrats erst anfängt, wenn die salpetrige Phase der Nitrifikation ganz beendet, d. h. alles Ammoniak verschwunden ist“, und einige Zeilen weiter fortfährt: „Das Ammoniak — ein in der Natur so weit verbreiteter Körper, besonders an den von den Mikroben bewohnten Orten, denen sie⁴⁾ mehrfach zur Nahrung dient — galt nur als Alkali, und in starker Dosis für antiseptisch.“ . . . „Jetzt müssen wir zugeben, daß Warrington recht hatte.“ — Auf Grund dieses Passus sowohl wie auch nach der Fassung des ersten Satzes ist man doch meines Erachtens genötigt anzunehmen, daß Winogradsky ganz allgemein die Ammoniaksalze im Sinne gehabt hat.

Migula sagt ausdrücklich, daß erst sämtliche Ammonverbindungen im Boden in Nitrit übergeführt sein müßten, ehe Nitratbildung stattfinden könne.

Daß nach Schmidt und Weis ebenfalls die Ammonverbindungen ein kräftiges Gift für die Nitratbakterien sein sollen, wurde erwähnt.

1) l. c. Kochs Jahresber. Bd. II. p. 217.

2) Conn, Agricultural Bacteriology. 1902. p. 103.

3) l. c. p. 385.

4) Druckfehler im Original.

A. Fischer spricht nur von Ammoniak; da sich dieses aber im Boden „anhäufen“ soll, so sind wohl auch hier Ammonsalze gemeint.

Der Gegensatz zwischen der Theorie des zeitlich getrennten Verlaufes von Nitrit- und Nitratbildung und der Erfahrung, daß im Boden und in gewissen Fällen auch in Lösungen sofort das gebildete Nitrit ohne Rücksicht auf die noch vorhandenen Ammonverbindungen zu Nitrat oxydiert wird, löst sich also, wie mir scheint, in der Weise, daß allerdings dann, wenn die Versuchsbedingungen so gewählt werden, daß freies Ammoniak oder Ammonkarbonat, wenn auch nur in einigermaßen erheblichen Mengen, zugegen oder andere Ammonsalze in relativ hoher Konzentration vorhanden sind, die Nitratbildung verzögert oder völlig verhindert wird. In anderen Fällen, vor allem im Boden, vollzieht sich, sofern nicht andere, spezifisch ungünstige Einwirkungen sich geltend machen — worüber sogleich noch einige Worte zu sagen sind — die Nitratbildung in dem Maße, wie das Nitrit aus den Ammonverbindungen hervorgeht.

Es wurde oben erwähnt, daß verschiedene Beobachter konstatieren konnten, daß in abnormen, kalkarmen, sauren und humosen Böden weniger die Nitrit- als vielmehr ganz besonders die Nitratbildung eine Verzögerung erfuhr. Daß die organische Substanz der Waldböden, die Migula¹⁾ untersuchte, nicht die Ursache sein konnte, führt der genannte Autor auf Grund der von Winogradsky und Omelianski erlangten Resultate selbst an. Nicht unmöglich ist es, daß in diesen wie in manchen anderen Fällen vielleicht in der sauren Beschaffenheit der Erde der Grund für die Verzögerung der Nitratbildung zu suchen ist. Bei den Umsetzungsversuchen konnte sich wahrscheinlich der Nitritbildner besser entwickeln, weil in der für die Nitritbildung benutzten Ammonsalzlösung der Zusatz von Kreide oder Magnesiumkarbonat für die Neutralisation, sowie für Erhaltung der alkalischen Reaktion ausreichend war, dagegen in der für den Nitratbildner bestimmten Lösung, in der nur die relativ geringe Sodamenge an die Stelle des Magnesium- bzw. Calciumkarbonats trat, vielleicht in der ungeeigneten Reaktion die Hemmungsursache zu erblicken ist. Es liegt mir fern, mich in vage Hypothesen zu verlieren. Nur noch darauf möchte ich hier hinweisen, daß, wie aus Warringtons Angabe, daß in einer Ammonsalzlösung von relativ schwacher Konzentration bei gewöhnlicher Temperatur die Nitrat-, bei höherer dagegen die Nitritbildung überwog, hervorgeht, mitunter recht geringe Unterschiede eine Aenderung des Resultates herbeiführen können. Es kommt eben, ganz allgemein gesagt, darauf an, ob nach den jeweils innegehaltenen Versuchsbedingungen die Nitrit- oder die Nitratmikroben mehr in ihrer Tätigkeit gefördert werden, und nur mit großer Vorsicht darf von den Ergebnissen des Laboratoriumsexperimentes auf die in der Natur sich abspielenden Prozesse geschlossen werden.

1) l. c. p. 370.

II.

Was nunmehr den zweiten der eingangs angeführten Sätze anlangt, der von der Wirkung der organischen Substanzen handelt, so ist von vornherein darauf hinzuweisen, daß auch hier, wie beim ersten Satz, die Fassung als eine zu allgemeine bezeichnet werden muß. Für gewisse organische Substanzen haben ja allerdings die beiden Autoren den schädlichen Einfluß einigermaßen erheblicher Quantitäten zur Evidenz erwiesen. Indessen muß berücksichtigt werden, daß auch die geringsten der hemmend wirkenden Mengen dieser Substanzen noch wesentlich größer sind als jene, die in den Boden gelangen, sofern dies überhaupt der Fall ist. Mistdekot, Heu-, Blätterinfus haben erst hemmend gewirkt, wenn mehr als 10 Proz. der Lösung zugesetzt wurden. (Der Landwirt bringt nur selten wenig mehr als 1 Proz. Dünger auf das Feld!) Gartenerdeinfus hat auch bei Verwendung von 32 Proz. nicht hemmend eingewirkt, was mit meinen früher mitgeteilten Resultaten übereinstimmt¹⁾.

Einen Beweis für die hemmende Wirkung eines Uebermaßes von organischer Substanz liefert ja die langsame Nitrifikation im Stalldünger, die aber doch bei längerer Lagerzeit gewöhnlich mehr oder minder deutlich beobachtet werden kann. Wenn Behrens²⁾ glaubt, daß noch niemand im lagernden Stalldünger Salpeterbildung konstatiert habe, so scheinen mir dem die zahlreichen von Holdelfleiß³⁾ u. a. veröffentlichten Untersuchungen über das Vorkommen von Salpeter im Stalldünger zu widersprechen. Uebrigens soll es nach der sogleich anzuführenden Aussage Winogradskys allgemein bekannt sein, daß im Stalldünger „energischste Nitrifikation“ stattfindet.

Denn wie bei der Besprechung des ersten Satzes muß ich auch hinsichtlich der Frage nach dem Einfluß der organischen Substanzen auf eine frühere Äußerung Winogradskys⁴⁾ zurückgreifen, welche lautet:

„Bekanntlich liefern ja organische stickstoffreiche Substanzen eigentlich das Material, auf dessen Kosten die Salpeterbildung in

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. II. 1893. p. 418. Uebrigens möchte ich die sich hier bietende Gelegenheit nicht unbenutzt vorübergehen lassen, einen Irrtum, der mir bei der Niederschrift jener Arbeit untergelaufen ist, dahin zu berichtigen, daß die dort mitgeteilten Prozentzahlen für die Salpeterbildung deshalb etwas zu hoch angegeben sind, weil die aus der Luft stammende Stickstoffmenge vor der Berechnung nicht in Abzug gebracht wurde. Die richtig berechneten Zahlen sind etwas niedriger und lauten für

	Omelianski-Lösung	Bodenextrakt
September	67,96	68,16
November	61,76	59,34
Januar	44,20	49,61

Ein Vergleich zeigt, daß die Relationen dadurch in keiner Weise geändert werden und somit die aus jenen Zahlen gezogene Folgerung ihre volle Geltung behält.

2) Behrens, Referat über Stutzer und Hartlebs Untersuchungen über salpeterzerstörende Bakterien in Kochs Jahresber. Bd. X. p. 251.

3) Holdelfleiß, Untersuchungen über den Stallmist. 1889.

4) Winogradsky, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. II. 1896. p. 418.

der Natur sich vollzieht; und es ist ja die allgemeine Erfahrung, daß die energischste Nitrifikation in solchen Substraten, wie Stallmist oder durch Abwässer stark gedüngter Boden ... vor sich geht.“ An dieser Stelle wird auch hervorgehoben, daß es nicht angängig ist, „so ganz allgemein über die Beziehungen der organischen Substanz zu den Nitrobakterien“ zu „sprechen, ohne die Qualität und die Quantität dieser Substanz ... zu berücksichtigen“.

Daß aber geringe Mengen organischer Substanzen, die die Nitrifikation noch nicht verzögern, bereits eine deutlich wahrnehmbare Salpeterzersetzung herbeiführen können, zeigte mir eine gelegentliche Beobachtung. Ich fügte dem Bodenextrakt (+ 0,5 pro Mille K_2HPO_4) zum Teil an Asparagin und Traubenzucker je 0,1 pro Mille hinzu. Versetzt mit 1 pro Mille $(NH_4)_2SO_4$ und Kreide, geimpft mit 10 Proz. Erde, wurden in je 50 ccm in flacher Schicht nach Verlauf von 4 Wochen an oxydiertem Stickstoff (im Mittel von je 4 Parallelversuchen) gefunden

ohne Zusatz	mit Asparagin + Traubenzucker
4,80 mg	4,77 mg

Enthielt dagegen der Bodenextrakt 2 pro Mille Salpeter und wurde er in hoher Schicht aufbewahrt, so veränderte sich nach Impfung mit 10 Proz. Erde der in 100 ccm vorhandene Stickstoffgehalt [ursprünglich 30,66 bzw. 33,04 mg Stickstoff¹⁾ als Salpeter + Asparagin und 13,18 bzw. 13,40 mg Stickstoff²⁾ in Bodenextrakt + Erde] innerhalb 8 Wochen folgendermaßen (Mittel von je 4 Parallelversuchen):

	ohne Zusatz	mit Asparagin + Traubenzucker
Salpeter(+ Asparagin)-N	+ 4,83 mg	— 0,53 mg
Boden-N	— 2,30 „	— 1,44 „
Gesamt-N	+ 2,53 mg	— 1,97 mg

Wie aus der Verringerung des organischen (Boden-)Stickstoffes hervorgeht, hat in beiden Fällen trotz der hohen Schicht deutliche Salpeterbildung stattgefunden³⁾. Der durch Zusatz der geringen Asparagin- und Traubenzuckermengen veranlaßte Gesamtstickstoffverlust beträgt rund 6 Proz. des ursprünglich vorhandenen Salpeterstickstoffes, unter Berücksichtigung der in dem ohne Zusatz gebliebenen Kolben nachweisbaren Stickstoffassimilation würde er auf 13 Proz. steigen.

Mag auch vielleicht mit Recht gegen diesen Versuch eingewendet werden, daß es infolge der langen Versuchsdauer unentschieden bleibt, ob etwa zunächst nur Denitrifikation, erst nach Verbrauch der organischen Substanzen Nitrifikation stattgefunden hat, so ist doch weiterhin darauf hinzuweisen, daß auch van Iterson⁴⁾ gezeigt hat, daß in ein und derselben Lösung je nach der stärkeren

1) Reduziert mittels Zink und Eisen in alkalischer Lösung.

2) Bestimmt nach Kjeldahl.

3) Ammoniak konnte nicht nachgewiesen werden.

4) van Iterson, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 112.

oder schwächeren Luftzufuhr Nitrifikations- bzw. Denitrifikationserscheinungen auftreten können.

Ja, Hiltner und Störmer¹⁾ haben sogar in der von organischen Substanzen freien, von Winogradsky benutzten Nitritlösung Denitrifikation beobachtet.

Gerlach und Vogel²⁾ fanden, daß in Erde lebhaft Denitrifikation dann stattfand, wenn sie die verwendeten 300 g Boden mit 150 ccm Flüssigkeit tränkten, wodurch die Luft in weitgehendem Maße ausgeschlossen war. Allerdings war bei diesem Versuche ein reichliches Quantum Stroh zugegen, daß diesem aber gegenüber dem Luftmangel eine geringere Bedeutung beizumessen ist, geht, wie aus den bisher mitgeteilten Angaben, auch daraus hervor, daß nach Richters³⁾ Ermittlungen auch in dem in Vegetationsgefäßen befindlichen, reichlich mit Salpeter, aber nicht mit Stroh oder anderen organischen Substanzen gedüngten, gleichmäßig feucht erhaltenen Böden geringe, höchst wahrscheinlich auf Denitrifikation zurückzuführende Stickstoffverluste eintreten.

Nun ist es ja aber nach den Untersuchungen von Pfeiffer und Lemmermann⁴⁾, Krüger und Schneidewind⁵⁾ u. a. bekannt, daß die Denitrifikation in der Ackererde, wenn überhaupt, nur eine sehr untergeordnete Rolle spielt. Die durch zahlreiche Vegetationsversuche festgestellte ungünstige Einwirkung einer Kot- oder Strohbedüngung auf die Ausnutzung des Salpeterstickstoffes, die man in etwas voreiliger Weise als Denitrifikationsvorgang ansprach, hat ja nunmehr dadurch ihre Erklärung gefunden, daß in derartigen Fällen vorwiegend eine Festlegung des Salpeter- und anderen Stickstoffes seitens verschiedener Mikroorganismen in Form von Körpersubstanz stattfindet.

In Bezug auf diese, allerdings noch recht wenig erforschte „Eiweißbildung“ scheint nun allerdings der Satz zu Recht zu bestehen, daß für das Zustandekommen dieser Umsetzung vor allem das Vorhandensein reichlicher Mengen leicht assimilierbarer organischer Substanzen ausschlaggebend ist. Werden im Experiment Bedingungen geschaffen, die weit von den im praktischen Betriebe der Landwirtschaft vorkommenden abweichen, dann ist es allerdings möglich, daß die Eiweißbildung in stärkerem Maße stattfindet als die Salpeterbildung. Unter normalen Verhältnissen scheint es aber, soweit dies nach den wenigen bisher in dieser Richtung gesammelten Erfahrungen zu beurteilen möglich ist, auch

1) Hiltner und Störmer, Arbeiten a. d. biol. Abt. d. kais. Ges.-Amtes. Bd. III. 1903. p. 504. Leider habe ich in meiner früheren Veröffentlichung (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 262), in der ich mich mit einigen der in dieser Arbeit niedergelegten Ausführungen zu befassen hatte, mich insofern einer Inkorrektheit schuldig gemacht, als ich versehentlich als Autor nur Hiltner, nicht auch den Mitarbeiter Störmer genannt habe.

2) Gerlach und Vogel, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 622.

3) Richter, Landw. Versuchsstation. Bd. LI. 1899. p. 221.

4) cf. Lemmermann, Kritische Studien über Denitrifikationsvorgänge. 1900. p. 86.

5) Krüger und Schneidewind, Landw. Jahrb., Bd. XXX. 1901. Heft 4.

hier wie bei der Denitrifikation i. e. S. sich so zu verhalten, daß durchaus nicht der eine Prozeß das gleichzeitige Auftreten des entgegengesetzten im Boden völlig hindert.

Winogradsky ¹⁾ hat aber ausdrücklich von der Denitrifikation i. e. S. gesprochen und die Ansicht, daß der Luftmangel für das Zustandekommen dieser Erscheinung ausschlaggebend sei, abgelehnt zu Gunsten der Anschauung, daß im Vorhandensein „gärungsfähiger Substanz“ das regulierende Prinzip zu erblicken ist.

Auf Grund der oben angeführten Beobachtungen vermag ich mich dieser Auffassung nicht anzuschließen. Aus ihnen scheint mir vielmehr hervorzugehen, daß 1) die Denitrifikation im Boden keine nennenswerte Rolle deshalb spielt, weil der Luftzutritt ein zu reichlicher ist; 2) die Eiweißbildung erhebliche Dimensionen aus dem Grunde nicht annehmen kann, weil leicht assimilierbare organische Substanzen in der Regel nur in relativ recht geringer Menge in den Boden gelangen; 3) die Nitrifikation im Acker die antagonistischen Prozesse an Intensität darum meist weit übertrifft, weil die an dieser Umsetzung beteiligten Mikroorganismen infolge ihrer ausgesprochen prototrophen Lebensweise den in der Ackererde herrschenden Bedingungen aufs beste angepaßt sind. — Im übrigen aber können unter gewissen Bedingungen und in gewissem Grade Nitrifikation und Denitrifikation, möglicherweise auch Eiweißbildung, gleichzeitig in der Ackererde stattfinden.

Als Gesamtergebnis der vorliegenden Abhandlung resultiert meines Erachtens mit völliger Klarheit, daß die beiden Sätze Winogradskys in ihrer generellen Fassung, so wie sie niedergeschrieben und in die Literatur übergegangen sind, nicht aufrecht erhalten werden können. Die schönen Ergebnisse der Untersuchungen Winogradskys und Omelianskis haben uns in den Stand gesetzt, auf Grund der erlangten Kenntnis hinsichtlich der physiologischen Eigentümlichkeiten der Nitrifikationsorganismen das verwickelte Durcheinander der verschiedenen Prozesse in der Natur im Laboratorium zu entwirren und die verschiedenen Teilprozesse eingehend zu studieren. Wir lernen so die Vorgänge in der Natur verstehen, von denen wir aber nicht erwarten dürfen, daß sie Schritt für Schritt mit den im Laboratorium erlangten Befunden übereinstimmen müssen. Hier haben wir sie in durchsichtiger Klarheit und Einfachheit, dort getrübt durch die mannigfaltigsten Komplikationen.

Leipzig, Oktober 1904.

1) l. c. Bd. V. 1899. p. 438.

Nachdruck verboten.

Eignet sich Wasserstoffsuperoxyd zum Sterilisieren der Milch?

[Arbeit aus der Hygienischen Untersuchungsanstalt der Stadt Danzig.]

Von Dr. P. Gordan,

jetzt Vorstand des bakteriologischen Instituts der Landwirtschaftskammer für Westpreußen an der Molkereischule Praust.

In der Milchzeitung No. 44. 1903 ist ein neues Verfahren mit der Ueberschrift „Eine neue Methode die Milch zu sterilisieren“ veröffentlicht, das von C. C. L. Buddé in Kopenhagen erfunden und zur Patentierung angemeldet worden ist.

Bei dieser Methode sollen die Bestandteile der Milch weder chemisch noch physikalisch verändert werden. Die Erfindung beruht nach Angabe des Verf. auf der Tatsache, daß in der Entstehung begriffene Säuren bei einer Temperatur von nicht unter 40° C absolut tödlich wirkt auf alle in der Milch und sonstigen Nahrungsmitteln vorkommenden Bakterien und Sporen, ja auch auf die am meisten widerstandsfähigen Zellen, z. B. Sporen von *Bacillus subtilis* und andere, welche im Wasser befindlich, das Aufkochen derselben vertragen.

Bekanntlich, fährt Verf. fort, übt im Entstehen begriffene Säure eine intensivere chemische Einwirkung aus als freie Säure, was wahrscheinlich dadurch zu erklären ist, daß im ersteren Falle die Säure in freien Atomen auftritt. Daß diese intensivere Einwirkung auch bei lebenden Mikroorganismen zur Geltung kommt, ist von vornherein anzunehmen, es ist dies aber außerdem durch mannigfache Versuche bestätigt worden. Jedoch hat es sich erwiesen, daß die meisten Mikroorganismen der erwähnten Einwirkung gegenüber bei gewöhnlicher Temperatur und bei Temperatur bis an 40° C heran standhaft bleiben, wenn sie auch dabei in ihrer Entwicklung auf kurze Zeit gelähmt werden, daß jedoch keiner dieser Mikroorganismen der erwähnten Einwirkung bei einer Temperatur von 40° C und darüber Widerstand zu leisten vermag.

Die einfachste Weise, Milch oder andere Nahrungsmittel der Einwirkung sich bildender Säure auszusetzen, besteht darin, diese Produkte in Berührung mit Wasserstoffsuperoxyd zu bringen. Es befinden sich nämlich in den Nahrungsmitteln gewisse organische Stoffe (Enzym, Fibrin u. s. w.), welche im stande sind, Wasserstoffsuperoxyd in Säure und Wasser zu zerlegen, ohne sich selbst zu verändern. Wird also Wasserstoffsuperoxyd in angemessener Quantität bei Milch angewandt, so werden alle Mikroorganismen getötet, ohne daß die Milch nach Beendigung des Sterilisierens fremde Bestandteile enthält und ohne daß ihre physikalischen und chemischen Eigenschaften verändert sind.

Schon seit einigen Jahren werden fast alle Methoden, die für die Sterilisierung der Milch empfohlen werden, im hiesigen Institut im Interesse der Säuglingsernährung eingehend geprüft. In einer

kürzlich veröffentlichten Arbeit von Petruschky und Kriebel¹⁾ ist nachgewiesen worden, daß ein großer Teil dieser neuen Milchverbesserungsvorschriften nicht das halten, was sie versprechen.

In der hiesigen Untersuchungsanstalt wurden Milch und Milchpräparate nach der von Prof. Petruschky angegebenen Methode untersucht. Die Beweggründe hierzu, wie die ausführliche Beschreibung, sind eingehend in der eben erwähnten Arbeit¹⁾ geschildert. Da ich zur Nachprüfung des Buddeschen Verfahrens mich dieser Methode bediente, will ich dieselbe hier dem Wortlaut nach wiedergeben.

„Um nun vor allem einmal möglichst exakt die Anzahl der in eingekauften Milchsor ten vorhandenen Bakterienkeime festzustellen, benutzten wir das neuerdings von Petruschky und Pusch angegebene Verfahren zur Feststellung des „Thermophilen-Titers“ als Maßstab bakterieller Verunreinigung, d. h. derjenigen durch Verdünnungen ermittelten geringsten Menge von Milch, in welcher noch Bakterien, die bei Brutwärme gedeihen, anwesend sind²⁾. Bei der Anwendung des Kochschen Plattenverfahrens auf die Untersuchung der Milch ergeben sich nämlich zwei schwerwiegende Uebelstände, die einer exakten Feststellung der Keimzahl hinderlich waren: Erstens ist die Milch selbst in starken Verdünnungen kein durchsichtiges Medium, sie enthält nicht nur die bekannte Trübung durch mikroskopisch feine Fettkügelchen, sie enthält auch Körperchen verschiedener Größe, welche bei der Auszählung der Platten leicht irrtümlich für Bakterienkeime gehalten werden können. Zweitens werden aber auf der Gelatineplatte, welche eine höhere Temperatur als 22° C nicht aushält; diejenigen Bakterienarten, welche eine größere Wärme lieben, also gerade die dem Menschen am schädlichsten schnell von den rascher wachsenden Keimen überwuchert, so daß sie gar nicht zur Beobachtung gelangen. Mikroskopiert man nämlich ein Tröpfchen Milch unter Anwendung der bei der bakteriologischen Untersuchung üblichen Färbungsmethoden, so findet man fast immer eine mehr oder weniger erhebliche Anzahl von Kettenkokken (Streptokokken) darin. Diese werden auf der Gelatineplatte fast vollständig unterdrückt und entgehen der Beobachtung.

Das Arbeiten mit der neuen Methode zur Feststellung des „Thermophilen-Titers“ ergab denn auch sehr bald ein ganz überraschendes, kaum erwartetes Resultat: Bei den im Sommer 1903 untersuchten Milchproben überwog der Gehalt an Kettenkokken so außerordentlich alle übrigen Bakterienkeime der Milch, daß die Gesamtmenge aller übrigen Keime, einschließlich der Säurebildner, nur den zehnten bis hundertsten Teil der nachgewiesenen Streptokokkenkeime betrug.

Die Handhabung des Untersuchungsverfahrens geschah folgendermaßen:

Zur Verdünnung der Milch wurden 3 oder 4 Erlenmeyer-

1) Die Ursachen der Sommersterblichkeit der Säuglinge und die Möglichkeit ihrer Verhütung. Leipzig (F. Leineweber) 1904.

2) Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. 1903.

Kölbchen mit sterilisiertem Wasser verwendet, deren jedes genau 50 ccm enthielt.

In das erste Kölbchen wurde genau 0,5 ccm ($\frac{1}{2}$ ccm) der Milch mittels graduierter steriler Pipette eingelassen. Der Inhalt des Kölbchens wurde dann durch Schütteln innig vermischt. Auf die Weise war eine Verdünnung im Verhältnis 0,5:50 oder 1:100 hergestellt. 1 ccm dieser Verdünnung enthielt somit genau 0,01 ($\frac{1}{100}$ ccm) der ursprünglichen Milchprobe. Von der ersten Verdünnung wurde nun auf genau die gleiche Weise mit einer neuen sterilen Pipette die zweite Verdünnung 1:100 in dem zweiten Kölbchen hergestellt, so daß dieses nun eine Verdünnung von 1:10 000 ($= 1:10^4$) der ursprünglichen Milch enthielt. Auf die gleiche Art wurden dann noch die Verdünnungen 1:1 000 000 ($1:10^6$) und 100 000 000 ($1:10^8$) hergestellt. 1 ccm der Verdünnung $1:10^8$ mußte nun genau 0,00000001, d. h. ein hundertmillionstes ccm der ursprünglichen Milchprobe enthalten.

Von den gewonnenen vier Verdünnungen $1:10^2$, $1:10^4$, $1:10^6$, $1:10^8$ wurden jedesmal je zwei abgemessene Proben zur Aussaat benutzt und zwar wenigstens 1 ccm und 0,1 ccm. Die Aussaat geschah direkt in Probierröhrchen, die mit steriler Nährbouillon gefüllt waren und dann sogleich in den Brutschrank gebracht wurden, um die bei Wärme und Luftzutritt gedeihenden Bakterienkeime zur Entwicklung zu bringen. Die acht in dieser Weise besäten Röhrchen enthielten der Reihe nach genau

$$\frac{1}{10^2} \frac{1}{10^3} \frac{1}{10^4} \frac{1}{10^5} \frac{1}{10^6} \frac{1}{10^7} \frac{1}{10^8} \frac{1}{10^9} \text{ ccm}$$

der ursprünglichen Milch.

Bereits nach 24 Stunden war das Ergebnis zu sehen, d. h. ein Teil der besäten Röhrchen war durch Bakterienentwicklung getrübt, ein anderer Teil vollkommen klar geblieben. Die Trübung selbst aber war nicht immer gleich in allen Röhrchen ausgefallen. Während einige derselben eine starke Trübung zeigten, war in anderen nur ein leichter Schleier zu bemerken. Zuweilen trat dieser Schleier auch etwas später, z. B. nach 48 Stunden, auf.

Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigte sich nun, daß die stark getrübten Röhrchen, welche die geringeren Verdünnungen enthielten, stets reichlich mit Säurebildnern (Kotbakterien) besetzt waren und daneben auch andere Bakterienarten in größerer oder geringerer Menge enthielten, während die nur einen leichten Schleier aufweisenden Röhrchen von den stärkeren Verdünnungen durchweg Reinkulturen von Streptokokken enthielten. Es ging daraus hervor, daß Streptokokken um mehr als das Zehnfache aller übrigen Bakterienarten der Milch überwogen.

Die Milch, die zu den folgenden Versuchen diente, stammte von einem in der Nähe Danzigs gelegenen Gute. Sofort nach der Einlieferung wurde dieselbe in den Keller bzw. in den Eisschrank gebracht und blieb dort, bis sie abgekocht oder anderweitig für den Kranken verwendet wurde.

Die Erhitzung der Milch führte ich im Wasserbade von 50°C in sterilen mit Patentverschluß versehenen Flaschen von 500,0 g In-

halt aus. Solange die Flaschen im Wasserbad standen, schüttelte ich dieselben alle 10 Minuten einmal kräftig um. Es wurden jedesmal 300 ccm in Arbeit genommen.

Neben jedem Versuch mit Wasserstoffsuperoxyd stellte ich einen Kontrollversuch ohne H_2O_2 an.

Zu fast sämtlichen Versuchen ¹⁾ wurde Wasserstoffsuperoxyd Merk Darmstadt 30 Proz. verwendet. Die Verdünnungen wurden jedesmal frisch hergestellt.

Bei den ersten Versuchen kam es mir darauf an, festzustellen, ob Wasserstoffsuperoxyd, ohne mit der Milch erwärmt zu werden, Bakterien-vernichtend wirkt.

Versuch I.

Mit 0,1 Proz. H_2O_2 .

Die Milch wurde 30 Minuten lang auf 50° C erhitzt. Nach dem Erkalten 0,1 Proz. H_2O_2 zugesetzt und gut umgeschüttelt.

Der Geschmack der Milch war eigentümlich säuerlich, bald nach dem Genuß der Milch war Kratzen im Hals zu bemerken.

Nach 10 Minuten wurden die Verdünnungen angelegt.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
	1,0	Milchtrübung	Streptokokken u. Sporenbacillen
	0,1	desgl.	desgl.
1:10 ²	1,0	desgl.	desgl.
	0,1	Schleier	Streptokokken
1:10 ⁴	1,0	klar	steril
	0,1	"	"

(In 1 ccm Säureerreger nicht nachweisbar.)

Nach 21-stündigem Stehen im Eisschrank (10° C) hatte sich der Geschmack der Milch nicht verändert.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ²	1,0	Milchtrübung	Säureerreger, Sporenbacillen, Diplokokken, Streptokokken
	0,1	Trübung	desgl.
1:10 ⁴	1,0	"	Säureerreger und Sporenbacillen
	0,1	"	desgl.
1:10 ⁶	1,0	"	Säureerreger
	0,1	klar	steril

Nach 3 Tagen war die Milch sauer.

Kontrollversuch ohne H_2O_2 .

Der Versuch wurde genau wie nebenstehender zu gleicher Zeit und mit gleicher Milch ohne Zusatz von H_2O_2 ausgeführt.

Der Geschmack der Milch war normal.

Nach 10 Minuten wurden die Verdünnungen angelegt.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ²	1,0	Milchtrübung	Säureerreger, Streptokokken u. Sporenbacill.
	0,1	Trübung	Streptokokken u. Sporenbacillen
1:10 ⁴	1,0	"	desgl.
	0,1	Schleier m. Häutchen auf d. Bouill.	desgl.
1:10 ⁶	1,0	klar	steril
	0,1	"	"

Nach 21-stündigem Stehen im Eisschrank war die Milch sauer.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ⁴	1,0	Trübung	Säureerreger, Diplokokken u. Sporenbacillen
	0,1	"	desgl.
1:10 ⁶	1,0	"	Diplokokken u. Sporenbacillen
	0,1	klar	steril

1) Bei Versuch III und IV gelangen 10 Proz. Wasserstoffsuperoxyd (Schuster und Koehler, Danzig) zur Anwendung.

Versuch II.

Mit 0,2 Proz. H_2O_2 .

Wie Versuch I ausgeführt, nur wurde statt 0,1 Proz. Wasserstoffsuperoxyd 0,2 Proz. zugesetzt.

Beim Genuß der Milch starkes Kratzen im Hals zu bemerken.

Kontrollversuch ohne H_2O_2 .

Wie nebenstehend ohne Zusatz von H_2O_2 . Geschmack der Milch normal.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
	1,0	Trübung	Streptokokken u. Sporenbacillen
1:10 ²	0,1	„	desgl.
	1,0	„	desgl.
1:10 ⁴	0,1	„	desgl.
	1,0	Schleier	Streptokokken
	0,1	klar	steril

(In 1 ccm Säureerreger nicht nachweisbar.)

Nach 48 Stunden im Eisschrank Geschmack der Milch unverändert (Kratzen im Hals).

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ²	0,1	Trübung	Säureerreger und Sporenbacillen
1:10 ⁴	1,0	klar	Sporenbacillen
	0,1		steril

Nach 48 Stunden im Eisschrank war die Milch sauer.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ²	1,0	Trübung	Säureerreger und Streptokokken
1:10 ⁴	0,1	„	desgl.
	1,0	Schleier	Streptokokken
1:10 ⁶	0,1	„	„
	1,0	klar	steril

Nach 4 Tagen war die Milch geronnen.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ⁴	1,0	Trübung	Säurebacillen, Streptokokken u. Sporenbacill.
1:10 ⁶	0,1	„	desgl.
	1,0	„	desgl.
1:10 ⁸	0,1	„	Sporenbacillen u. Streptokokken
	1,0	klar	steril

Bei diesen beiden Versuchen wurde, nachdem die Milch eine halbe Stunde auf 50° erwärmt worden war, mit dem Erhitzen abgebrochen und 0,1 resp. 0,2 Proz. H_2O_2 zugesetzt. Das Ergebnis war, daß anfänglich das Wachstum der Säureerreger (*Bact. coli*) stark beeinträchtigt wurde: in 1 ccm konnten in beiden Versuchen Säureerreger nicht nachgewiesen werden, bei den Kontrollversuchen in 0,01 resp. 0,001 waren Säureerreger vorhanden, während die Streptokokken und Sporenbacillen weniger beeinflusst wurden. Die Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds auf die Säureerreger war aber nur von kurzer Dauer. Nachdem die Milch 24 resp. 48 Stunden im Eisschrank gestanden, konnte das Wachstum der Säureerreger bei Zusatz von 0,1 Proz. in 1:10⁶ 1,0, bei Zusatz von 0,2 Proz. in 0,001 g Milch konstatiert werden, eine Vermehrung der Sporenbacillen und Streptokokken war gleichfalls in beiden Fällen wie bei den Kontrollversuchen (ohne H_2O_2) eingetreten.

Bei den nächsten 3 Versuchen setzte ich jedesmal 0,9 g Wasserstoffsuperoxyd pro Liter der Milch zu, und zwar vor Beginn des Versuches. Der Zweck war, festzustellen, ob schon nach kurzer Zeit bei Einwirkung der Wärme (50° C) eine erhebliche Abnahme der Bakterien wahrzunehmen ist.

Versuch III.

Mit 0,9 pro Mille H_2O_2 15 Minuten lang auf 50° erwärmt¹⁾. Hierauf 2 Stunden im Eisschrank, dann Aussaat.
Geschmack unbedeutend nach H_2O_2 .

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
	0,1	Milchtrübung	Säureerreger, Sporenbacillen u. Streptokokk.
1:10 ²	1,0	desgl.	Sporenbacillen u. Streptokokken
1:10 ³	0,1	Trübung	desgl.
	1,0	Schleier	Streptokokken
	0,1	klar	steril

Die Milch wurde 48 Stunden in den Eisschrank gestellt. Geschmack unverändert.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ²	1,0	Trübung	Säureerreger u. Streptokokken
	0,1	Schleier	Streptokokken
1:10 ³	1,0	klar	steril

Nach weiteren 24 Stunden im Eisschrank war die Milch sauer.

Versuch IV.

Mit 0,9 pro Mille H_2O_2 30 Minuten lang auf 50° erwärmt.
Geschmack gut. Sofort Abkühlung (Wasserleitung), dann Aussaat.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ²	1,0	Milchtrübung	Säureerreger u. Kokken
	0,1	Trübung	Kokken
1:10 ⁴	1,0	klar	steril

Die Milch stand 24 Stunden im Brutschrank bei 20° . Geschmack unverändert.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ²	0,1	Trübung	Säureerreger u. Diplokokken
1:10 ⁴	1,0	klar	Kokken
	0,1		steril

Kontrollversuch.

Dieselbe Milch ohne Zusatz von H_2O_2 15 Minuten lang auf 50° erwärmt. Hierauf 2 Stunden im Eisschrank, dann Aussaat.
Geschmack normal.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ²	0,1	Trübung	Säureerreger u. Streptokokken
1:10 ⁴	1,0		Streptokokken
	0,1	Schleier	
1:10 ⁶	1,0	klar	steril
	0,1	"	"

Die Milch war nach 48-stündigem Stehen im Eisschrank sauer.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ⁴	0,1	Trübung	Säureerreger, Sporenbacillen u. Streptokokk.
			Sporenbacillen u. Streptokokken
1:10 ⁶	1,0	"	steril
	0,1	klar	

Kontrollversuch.

Dieselbe Milch ohne Zusatz von H_2O_2 30 Minuten lang auf 50° erwärmt.
Geschmack wie bei Milch mit H_2O_2 . Sofort Abkühlung, dann Aussaat.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ²	1,0	Milchtrübung	Säureerreger, Kokken u. Diplokokken
	0,1	Trübung	Kokken u. Diplokokken
1:10 ⁴	1,0		desgl.
	0,1	Schleier	Diplokokken
1:10 ⁶	1,0	klar	steril

Die Milch stand 24 Stunden im Brutschrank bei 20° . Geschmack unverändert.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ⁶	1,0	Trübung	Säureerreger u. Diplokokken
	0,1	"	Diplokokken
1:10 ⁸	1,0	"	
	0,1	klar	steril

1) Zur Verdünnung des H_2O_2 wurde 10 Proz. H_2O_2 (Schuster & Kaehler, Danzig) benutzt.

Die Milch wurde noch 2 Tage bei 20° aufbewahrt. Geschmack wie anfangs.

Nach weiteren 24 Stunden war die Milch geronnen.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ²	0,1	Trübung	Säureerreger u. Diplokokken
1:10 ³	1,0	"	Diplokokken
	0,1	klar	steril

Nach weiteren 24 Stunden war die Milch geronnen.

Versuch V.

Mit 0,9 pro Mille H₂O₂¹⁾ 1 Stunde auf 50° erhitzt. Geschmack etwas säuerlich nach H₂O₂. Sofort Abkühlung (Wasserleitung), dann Aussaat.

Kontrollversuch.

Dieselbe Milch ohne Zusatz von H₂O₂ 1 Stunde lang auf 50° erhitzt. Sofort Abkühlung, dann Aussaat.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
	1,0	Milchtrübung	Sporenbacillen
	0,1	desgl.	"
1:10 ²	1,0	desgl.	"
	0,1	klar	steril

(In 1 ccm Säureerreger nicht nachweisbar.)

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
	1,0	Milchtrübung	Streptokokken, Bacillen, Sporenbacillen
	0,1	desgl.	desgl.
1:10 ²	1,0	desgl.	desgl.
	0,1	Trübung	Streptokokken
1:10 ⁴	1,0	klar	

(In 1 ccm Säureerreger nicht nachweisbar.)

Die Milch wurde 24 Stunden im Brutschrank von 37° aufbewahrt. Geschmack schwach sauer nach H₂O₂.

Die Milch wurde 24 Stunden im Brutschrank bei 37° aufbewahrt und war sauer.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ²	1,0	Milchtrübung	Säureerreger, Streptokokken u. Sporenbacill.
	0,1	Trübung	Streptokokken u. Sporenbacillen
1:10 ⁴	1,0	"	desgl.
	0,1	"	desgl.
1:10 ⁶	1,0	"	Sporenbacillen
	0,1	"	"
1:10 ⁸	1,0	"	steril

Nach weiteren 24 Stunden war die Milch geronnen.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ⁴	1,0	Trübung	Säureerreger, Sporenbacillen
	0,1	"	Sporenbacillen
1:10 ⁶	1,0	"	"
	0,1	"	"
1:10 ⁸	1,0	klar	steril

Nach weiteren 24 Stunden war die Milch geronnen.

Wird 0,9 g pro Liter Wasserstoffsuperoxyd (wie Budde empfiehlt) der Milch vor dem Erhitzen zugesetzt und wird kurze Zeit erhitzt, so ist, ähnlich wie bei den beiden Voruntersuchungen, bei denen Wasserstoffsuperoxyd nach dem Erhitzen der Milch zugesetzt worden war, eine anfängliche Hemmung der Säureerreger (Kotbakterien) zu bemerken, während Streptokokken und Sporenbacillen nur unwesentlich im Vergleich zum Kontrollversuch be-

1) Wasserstoffsuperoxyd 10 Proz. (Schuster & Kaehler, Danzig).

einflußt werden. Die schon lange bekannte Tatsache, daß saure Milch bakterienärmer ist als eine Milch, die nicht mehr frisch, aber noch nicht sauer ist, wird durch diese 3 Versuche illustriert.

Ob die Milch im Eisschrank oder bei Zimmertemperatur (20°) oder im Brütschrank (37°) aufbewahrt wurde, war für die Sterilisation von keiner Bedeutung, jedesmal trat binnen kurzer Zeit, sowohl bei der Wasserstoffsuperoxyd haltigen wie bei der Kontrollmilch, eine Säuerung und schließlich Gerinnung ein.

Während die Milch die eine Viertelstunde und 1 Stunde auf 50° unter Zusatz von 0,9 g pro Mille schwach erwärmt wurde, nach Wasserstoffsuperoxyd schmeckte, hatte sich der Geschmack der eine halbe Stunde mit H₂O₂ erhitzten Milch absolut nicht verändert.

Die Vorschrift zum Milch„buddisieren“ lautet nach der Milchzeitung. 1903. No. 44: „Da jedoch der Teil des Wasserstoffsuperoxyds, welcher zerlegt wird, ehe die Milch eine Temperatur von 40° erlangt hat, ohne die beabsichtigte Wirkung bleibt, so ist es praktischer, zuerst die Milch auf etwa 50° zu erwärmen und alsdann so viel von der Lösung zuzusetzen, daß die Milch ungefähr 0,35 g Wasserstoffsuperoxyd enthält, worauf man umrührt oder schüttelt und sodann die Milch der erwähnten Temperatur einige Stunden lang aussetzt.“

Die folgenden 3 Versuche wurden genau nach obiger Vorschrift mit verschiedenen Mengen von Wasserstoffsuperoxyd (0,35, 0,70, 1,05 pro Mille) ausgeführt.

Versuch VI.

Mit 0,35 pro Mille H₂O₂ 6 Stunden auf 50° erhitzt. Das Wasserstoffsuperoxyd wurde erst zugesetzt, nachdem die Temperatur der Milch 50° erreicht hatte. Geschmack nach H₂O₂ nach Beendigung des Erhitzens nicht vorhanden.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ²	1,0	Milchtrübung	Säureerreger, Streptokokken u. Sporenbacill.
	0,1	Trübung	Streptokokken u. Sporenbacillen
1:10 ⁴	1,0	"	desgl.
	0,1	klar	steril

Die Milch wurde 24 Stunden bei 20° aufbewahrt. Geschmack unverändert. Sodann 24 Stunden bei 37°. Die Milch war geronnen.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ²	1,0	Milchtrübung	Säureerreger, Sporenbacillen u. Streptokokk.
	0,1	Trübung	Sporenbacillen u. Streptokokken
1:10 ⁴	1,0	"	desgl.
	0,1	"	desgl.
1:10 ⁶	1,0	Schleier	Streptokokken
	0,1	"	"
1:10 ⁸	1,0	klar	steril

Kontrollversuch.

Dieselbe Milch ohne Zusatz von H₂O₂ zu gleicher Zeit 6 Stunden lang auf 50° erwärmt. Geschmack normal.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ²	1,0	Milchtrübung	Säureerreger, Streptokokken u. Sporenbacill.
	0,1	Trübung	desgl.
1:10 ⁴	1,0	"	Streptokokken u. Sporenbacillen
	0,1	klar	steril

Die Milch wurde 24 Stunden bei 20° aufbewahrt. Geschmack schwach sauer. Sodann 24 Stunden bei 37°. Die Milch war geronnen.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ²	1,0	Milchtrübung	Säureerreger, Sporenbacillen u. Streptokokk.
	0,1	Trübung	Sporenbacillen u. Streptokokken
1:10 ⁴	1,0	"	desgl.
	0,1	"	desgl.
1:10 ⁶	1,0	Schleier	Streptokokken
	0,1	"	"
1:10 ⁸	1,0	klar	steril

Versuch VII.

Mit 0,7 pro Mille H_2O_2 6 Stunden auf 50° erhitzt. Das Wasserstoffsperoxyd wurde erst zugesetzt, nachdem die Temperatur der Milch 50° erreicht hatte.

Geschmack unbedeutend säuerlich nach H_2O_2 nach Beendigung des Erhitzens.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ²	1,0	Milchtrübung	Säureerreger, Streptokokken u. Sporenbacill.
	0,1	Trübung	Streptokokken u. Sporenbacillen
1:10 ⁴	1,0	"	desgl.
	0,1	klar	steril

Die Milch stand 48 Stunden bei 20° . Geschmack schwach sauer.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ⁴	1,0	Trübung	Säureerreger, Streptokokken u. Sporenbacill.
	0,1	"	Streptokokken u. Sporenbacillen
1:10 ⁶	1,0	Schleier	Streptokokken
	0,1	"	"
1:10 ⁸	1,0	klar	steril

Kontrollversuch.

Dieselbe Milch ohne Zusatz von H_2O_2 zu gleicher Zeit 6 Stunden auf 50° erwärmt. Geschmack normal.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ⁴	1,0	Trübung m. Häutchen	Säureerreger, Streptokokken u. Sporenbacill.
	0,1	desgl.	Streptokokken u. Sporenbacillen
1:10 ⁶	1,0	klar	steril
	0,1	"	"

Die Milch stand 48 Stunden bei 20° . Geschmack schwach sauer.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ⁴	1,0	Trübung	Säureerreger, Streptokokken und vereinzelte Sporenbacillen
	0,1	"	Säureerreger und Streptokokken
1:10 ⁶	1,0	"	Säureerreger
	0,1	klar	steril

Versuch VIII.

Mit 1,05 pro Mille H_2O_2 6 Stunden auf 50° erhitzt. Das Wasserstoffsperoxyd wurde erst zugesetzt, nachdem die Temperatur der Milch 50° erreicht hatte.

Geschmack nach H_2O_2 nach Beendigung des Versuches. Nach dem Genuß der Milch Kratzen im Hals.

1 ccm Milch steril.

Kontrollversuch.

Dieselbe Milch ohne Zusatz von H_2O_2 zu gleicher Zeit 6 Stunden auf 50° erwärmt. Geschmack normal.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ²	0,1	Trübung	Säureerreger und Sporenbacillen
1:10 ⁶	1,0	"	Sporenbacillen
	0,1	klar	steril

Die Milch wurde 24 Stunden im Eisschrank, dann 24 Stunden bei 20° aufbewahrt.
Nach dem Genuß der Milch Kratzen im Hals.

1 ccm Milch steril.

Zuerst 24 Stunden im Eisschrank, Geschmack unverändert. Dann 24 Stunden bei 20° Milch sauer.

Verdünnungen	Menge der Aussaat	Ergebnis	
1:10 ⁴	1,0	Trübung	Säureerreger und Sporenbacillen
	0,1	"	Sporenbacillen
1:10 ⁶	1,0	"	"
	0,1	"	"
1:10 ⁸	1,0	klar	steril

Die Milch wurde 6 Tage noch bei 37° im Brutschrank aufbewahrt.

Nach dem Genuß der Milch Kratzen im Hals.

1 ccm Milch steril.

Außer diesen 3 eben angeführten Versuchen habe ich noch eine größere Anzahl mit wechselnden Mengen Wasserstoffsuperoxyd und bei verschiedener Dauer der Erhitzung ausgeführt. Ob die Milch 3, 4 oder 6 Stunden einer Temperatur von 50° ausgesetzt wurde, das bakteriologische Ergebnis unterschied sich immer nur unwesentlich von den eben angegebenen Versuchen. Kleine, nach der Buddeschen Vorschrift angegebene Mengen Wasserstoffsuperoxyd beeinflussen das Wachstum der Bakterien fast gar nicht, größere Mengen H₂O₂ rufen anfangs eine Hemmung der Säureerreger (Kotbakterien, Bact. coli) hervor, 3mal so große Mengen von Wasserstoffsuperoxyd, wie Budde angibt, vernichten alle Bakterien in der Milch.

Schon bei Zusatz von 0,7 pro Mille H₂O₂ bemerkt man einen unbedeutenden Geschmack nach Säure, größere Mengen verursachen Kratzen im Hals.

Was nun die Streptokokken und die Sporenbacillen in der Milch anbetrifft, so haben sämtliche Versuche ergeben, daß selbst 0,7 pro Mille H₂O₂ keine nennenswerte Verminderung dieser Keime hervorruft. Nach Petruschky muß aber eine streptokokkenreiche Milch als ein eiterähnliches Präparat bezeichnet werden, und nach den Versuchen von Flügge¹⁾ sind die Sporenbacillen resp. deren Stoffwechselprodukte im stande, Gifte zu produzieren, nach seiner Ansicht ist es wahrscheinlich, daß die Verdauungsstörungen der Säuglinge im wesentlichen auf die ungeheure Zahl der Sporenbacillen zurückzuführen sind.

Schon Barthel²⁾ hat seine Bedenken über das „Budde'sche Verfahren“ ausgesprochen. Er wies darauf hin, was auch durch meine Versuche III—V bestätigt wurde, daß verschiedene Milchsorten verschieden große Mengen von Wasserstoffsuperoxyd,

1) Flügge, Die Aufgaben und Leistungen der Milchsterilisierung. (Zeitschrift f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XVII. 1894.)

2) Milchtzg. 1903. No. 44. p. 690.

je nach dem Alter der Milch, Bakteriengehalt u. s. w. zerlegen. „Bleibt, führt Budde unter anderem aus, nach der Behandlung ein Ueberschuß von 0,05 g Wasserstoffsuperoxyd pro Liter in der Milch, so schmeckt diese deutlich danach. Setzt man hingegen geringere Mengen zu, so daß die Milch nach der Behandlung nur Spuren von Wasserstoffsuperoxyd enthält, so schmeckt die Milch allerdings nicht befremdlich und hält sich je nach der Temperatur längere oder kürzere Zeit süß und gut, so daß man bei Einimpfung solcher Milch auf Gelatine in der Zeit, die unmittelbar auf die Behandlung der Milch folgt, keine Bakterienentwicklung auf dem genannten Substrat enthält. Aber eine solche Milch ist doch nicht steril, denn wenn sie auch während und nach der Behandlung mittels Baumwollpfropfen, mittels hermetischer Abschließung vor Infektion geschützt worden ist, so erfährt sie doch, früher oder später, nachdem die Bakterien aus ihrem Lähmungszustand wieder erwacht sind, eine Zersetzung.“ Wie es sich mit solcher Milch mit krankheitserregenden Bakterien verhält, kann Barthel nicht angeben, da er keine besonderen Versuche in dieser Hinsicht ausgeführt hat.

Das Resultat meiner bisherigen Versuche stimmt im wesentlichen mit den eben erwähnten Ausführungen überein und steht im direkten Gegensatz zu den in einer späteren Nummer der Milch-Zeitung veröffentlichten Behauptung des Dr. Lewin aus Stockholm¹⁾: „Durch Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd bei einer Erwärmung auf 50° kann die vollständige Desinfektion der Milch bewirkt werden, ohne daß diese sich im Aussehen und Geschmack irgendwie verändert; zugleich kann eine solche Milch beliebig lange aufbewahrt werden, ohne sauer zu werden.“

Meines Wissens liegen bis jetzt keine Versuche mit direkten Krankheitserregern vor. In den folgenden Versuchen beabsichtige ich die Wirkung des Wasserstoffsuperoxyd auf den Typhusbacillus, der bekanntlich schon oft durch die Milch verschleppt, Epidemien verursachte, nachzuprüfen.

Zu 50 ccm steriler Magermilch wurde zunächst 0,5 ccm Typhusbouillon, sodann nach 24-stündigem Stehen im Brutschrank verschiedene Mengen (aus nachfolgender Tabelle ersichtlich) Wasserstoffsuperoxyd, nachdem die Milch im Wasserbade eine Temperatur von 50° erreicht hatte, zugesetzt. Die typhushaltige Milch hielt ich 6 Stunden bei einer Temperatur von 50°. Hierauf, wie während der folgenden ganzen Dauer des Versuches, wurde die Milch bei 37° aufbewahrt.

(Siehe Tabelle Versuch IX und X p. 727.)

Ergebnisse der Versuche IX und X: Kleine (nach Budde 0,35 pro Mille) Mengen Wasserstoffsuperoxyd vermögen nach 6-stündigem Erwärmen bei 50° das Wachstum des Typhusbacillus kurze Zeit zu hemmen, größere Mengen (0,7 pro Mille) vernichten den Typhusbacillus; aber auch in gewöhnlicher Milch (ohne H₂O₂) trat nach 6-stündiger Erwärmung eine momentane Entwicklungslähmung ein.

1) Milch-Zeitung. 1904. No. 23.

Versuch IX.

H ₂ O ₂ pro Liter	Wachstum			
	nach Beendigung des Erhitzens	nach 1 Tag	nach 3 Tagen	nach 5 Tagen
Kontrollversuch ohne H ₂ O ₂	negativ	positiv	positiv	positiv
„ mit 0,35	negativ	negativ	positiv	positiv
„ „ 0,70	negativ	negativ	negativ	negativ

Versuch X.

Ebensolche Typhusmilch wurde mit 1,0 und 2,0 per Mille H₂O₂, nachdem 50° erreicht war, 1 Stunde lang auf 50° erwärmt.

H ₂ O ₂ per Liter	Wachstum		
	nach Beendigung des Erhitzens	nach 1 Tag	nach 3 Tagen
Kontrollversuch ohne H ₂ O ₂	positiv	positiv	positiv
„ mit 1,0	positiv	negativ	negativ
„ „ 2,0	positiv	negativ	negativ

Wird Typhusmilch kurze Zeit (1 Stunde) auf 50° mit großen Mengen Wassersuperoxyd (0,1 und 0,2 Proz.) erhitzt, so sind nach Beendigung des Erwärmens die Bacillen noch lebensfähig, nach 24 Stunden aber zu Grunde gegangen.

Wie schon anfangs erwähnt, hat Budde die Behauptung aufgestellt, daß Wasserstoffsuperoxyd auf die am meisten widerstandsfähigen Zellen, z. B. Sporen von *Bacillus subtilis* und andere, welche, im Wasser befindlich, das Aufkochen desselben ertragen, bei einer Temperatur von nicht unter 40° C absolut tödlich wirkt.

Im Laufe meiner Versuche habe ich schon nachgewiesen, daß sporenhaltige Bakterien, die Flüggeschen peptonisierenden Bacillen, bei dem Buddeschen Verfahren nicht vernichtet werden, trotzdem wollt ich mir speziell über die Einwirkung des Wasserstoffsuperoxydes auf den von Budde erwähnten *Bacillus subtilis* Klarheit verschaffen.

Versuch XI.

Zur Anwendung gelangten 5 Monate alte Agarkulturen von *Bacillus subtilis*, die selbstredend reichlich Sporen gebildet hatten. Die Kulturen wurden mit 5,0 ccm Bouillon in sterile Kölbchen abgespült und hierauf so viel H₂O₂ haltige Bouillon zugesetzt, daß die *Bacillus subtilis*-haltige Bouillon die in der folgenden Tabelle angegebenen Mengen Wasserstoffsuperoxyd enthielt.

Mengen von H ₂ O ₂ im Liter	Wachstum	
	nach 1 Tag	nach 5 Tagen
I. 0,18	positiv	positiv
II. 0,35	positiv	positiv
III. 0,70	negativ	negativ

Nach 5 Tagen konnten bei I und II Sporen mikroskopisch nicht mehr nachgewiesen werden, die Bacillen waren teilweise zu Fäden ausgewachsen.

Fünf Tage nach Beginn des Versuches wurden die Kölbchen im Wasserbade erwärmt. Sobald die Temperatur von 50° erreicht war, setzte ich zu jedem Kölbchen frisch bereitete wassersuperoxydhaltige Bouillon zu, und zwar so viel, daß die Bouillon I mit 0,18 pro Mille 0,36 und die Bouillon II mit 0,35 pro Mille 0,7 Wasserstoffsuperoxyd im Liter enthielt. Hierauf wurden die Kölbchen 6 Stunden im Wasserbad bei 50° C gehalten.

Mengen von H_2O_2 im Liter	Wachstum	
	nach 1 Tag	nach 5 Tagen
I. 0,36	positiv	positiv
II. 0,70	negativ	negativ

Ergebnis: Ohne Anwendung von Wärme über 40° C ist es möglich, Heubacillensporen in Bouillon, der pro Liter 0,18 resp. 0,35 H_2O_2 zugesetzt ist, lebensfähig zu erhalten und zur Auskeimung zu bringen. Bei größeren Quantitäten H_2O_2 (0,7 pro Mille) gehen die Sporen auch ohne Anwendung von Wärme zu Grunde. Aber auch die Wärme (50° C), wie aus dem zweiten Teil des Versuches ersichtlich, vermag selbst bei 6-stündiger Dauer nicht anders zu wirken. Heubacillenkulturen, die sogar keine Sporen mehr enthielten, wurden bei einem Zusatz von 0,36 pro Mille H_2O_2 zur Bouillon nach 6-stündiger Erhitzung auf 50° in ihrem Wachstum nicht geschädigt; 0,7 H_2O_2 pro Mille tötete die Bacillen bald ab.

Dieser Versuch steht im völligen Widerspruch mit den anfangs erwähnten Ausführungen Buddes, daß keiner der Mikroorganismen der Einwirkung des Wasserstoffsuperoxydes bei einer Temperatur von 40° und darüber Widerstand zu leisten vermöge; er zeigt vielmehr, daß das wesentliche Moment für die Vernichtung der Bakterien die Menge des Wasserstoffsuperoxydes ist, in zweiter Linie kommt erst die Wärme in Betracht.

Fasse ich die Ergebnisse dieser Versuche zusammen, so gelange ich zu dem Resultat, daß kleine, von Budde angegebene Mengen Wasserstoffsuperoxyd so gut wie keine Bedeutung auf die Sterilisation der Milch ausüben. Größere Mengen Wasserstoffsuperoxyd wirken vorübergehend hemmend auf das Bakterienwachstum ein. Werden 3mal so große Mengen, wie Budde angibt, der Milch zugesetzt, dann erst werden alle Bakterien vernichtet.

Kleine Gaben Wasserstoffsuperoxyd beeinträchtigen den Geschmack der Milch nur unwesentlich. Größere Gaben verursachen einen beißenden, unangenehmen Geschmack, und große Mengen Wasserstoffsuperoxyd (0,1 Proz.) der Milch zugesetzt, machen diese für den menschlichen Genuß unbrauchbar.

Bedenkt man, daß auch Typhusbacillen bei dem Buddeschen Verfahren nicht zu Grunde gehen, ferner daß der ganze Sterilisationsprozeß umständlich, zeitraubend, und wenn reines Wasserstoffsuperoxyd (30,0 Proz. Merck) verwendet wird, auch ziemlich kostspielig ist, so liegt meines Erachtens kein Grund vor, dieses Verfahren in Deutschland nachzuahmen.

Nachdruck verboten.

Ursache der Cobb'schen Krankheit des Zuckerrohrs.

Von **Erwin F. Smith,**

United States Department of Agriculture, Washington, D. C., U. S. A.

In Australien publizierte im Jahre 1893 Cobb eine sehr interessante Mitteilung über eine sogenannte Gummikrankheit („Gumdisease“) des Zuckerrohrs, welche seit einigen Jahren in der Gegend des Clarence Flusses und in anderen Zuckerrohrbauenden Distrikten Australiens herrschte. Diese Krankheit schrieb Cobb Bakterien zu. Die hervorragenden Symptome waren Zwergartigkeit mit Rotz des „Pfeils“ oder Herzens (Herzfäule) und auch, was konstant war, das Vorkommen eines massenhaften gelben Schleimes oder „Gum“ in den Bündeln des Stammes. Diese Bakterien waren mikroskopisch untersucht und abgebildet, aber nicht viel kultiviert und nicht wohl charakterisiert. Cobb nannte sie *Bacillus vascularum*. Er machte durch Stich einige Inokulationen in den Rohrstamm mit gelbem Schleim, der aus dem kranken Stamme genommen war, aber keine mit Reinkulturen im gewöhnlichen Sinne dieses Ausdrucks. Resultate waren noch zu erwarten.

Im Jahre 1895 teilte Cobb über die Resultate dieser Inokulationen folgendes mit: Sie waren auf 7 Rohrstengeln, welche wegen ihres gesunden Aussehens ausgewählt wurden, obgleich sie in einer Gegend, wo die Krankheit sehr verbreitet war, standen, durchgeführt worden. Leider war dieser Gartenplatz so weit von Sydney entfernt, daß die inokulierten Rohrstengel ein ganzes Jahr nicht weiter beobachtet worden waren. Dann wurden sie geschnitten und zu Cobb gesandt. Ein Stamm war seit langem tot, ein anderer beinahe tot, und es konnte nicht mit Sicherheit gesagt werden, wodurch sie getötet waren. Alle anderen Stämme des Rohres, sowohl nicht inokulierte wie inokulierte, waren mit der Gummikrankheit infiziert. Von anderen Rohrstengeln in demselben Garten ist nichts gesagt, auch nichts von Symptomen im Laufe des Jahres.

Infolge dessen haben die Pflanzenpathologen behauptet, daß die Aetiologie dieser Rohruckerkrankheit nicht völlig aufgeklärt sei. Einige haben die Bakterien nur als eine saprophytische Erscheinung von untergeordneter Natur angesehen; andere sind der Ansicht, daß es vielleicht eine rein bakterielle Krankheit sei, die aber nicht gut geprüft sei. So schreibt z. B. Krüger in seinem Buche, Das Zuckerrohr und seine Kultur: „Zwar ist durch Reinkulturen und Infektionen die Ursache dieser Krankheit noch nicht unzweifelhaft erbracht, doch ist es sehr wahrscheinlich, daß obige Krankheit dem Angriffe der genannten Bakterien zuzuschreiben ist.“

Im Jahre 1902 publizierte auch Greig Smith in Australien eine Mitteilung über die Gummikrankheit des Zuckerrohres. Er kultivierte den Organismus rein und beschrieb sein Wachstum auf einigen Kulturmedien, sagt aber nichts von Infektionsexperimenten. Seine Studien waren meistens qualitativ-chemische Prüfungen über die Natur und Herkunft des Gummis. Durch ihre Reaktionen, welche meistens dieselben waren, wie die des reinen, auf Agar-Agar

gezüchteten bakteriellen Schleimes hielt er es für erwiesen, daß das Gummi in kranken Rohrstämmen bakterieller Herkunft sein muß, und daß folglich diese Krankheit nicht anders als bakteriellen Ursprungs sein könnte.

Ich weiß nicht, ob irgend jemand, den Verf. ausgenommen, seit Cobbs Mitteilungen diese Zuckerrohrkrankheit mit Rein-kulturen der Bakterien erzeugt hat.

Meine eigenen Untersuchungen waren im Jahre 1901 unter-nommen worden, aber die ersten Experimente mißlangen. Die Rohr-stengel aus Australien waren sehr lange unterwegs (5 Monate) und obgleich viel typischer, gelber Schleim in den Gefäßbündeln zu sehen und durch das Mikroskop als Bakterien zu erkennen war, war alles tot. Kulturen davon ergaben keine oder nur saprophytische Bak-terien in zerstreuten, weißen und roten Kolonien. Aus dem massenhaften gelben Schleime konnte ich leider keine gelben Ko-lonien bekommen. Die Rohrstengel waren aber so alt, geschrumpft und gebräunt, daß man nichts anderes davon erwarten konnte.

Im Jahre 1902 erhielt ich eine zweite Sendung von kranken Zuckerrohrstengeln aus Australien durch die Güte des Landbau-ministeriums von Neu-Süd-Wales. Diese Rohrstengel trafen schneller ein, waren am Ende mit Siegellack verstopft gewesen und bei Durchmusterung viel frischer als die der ersten Sendung. Wenn man sie durchschnitt, quoll viel gelber Schleim tropfenweise und lang-sam aus den Bündeln hervor, und war, wie das Mikroskop zeigte, aus Millionen von Bakterien zusammengesetzt. (Nichts anderes als Bakterien waren in den gelben Bündeln des Stammes zu finden.) Die Stämme waren 2 Fuß lang, 4—5 cm im Durchmesser und enthielten Hunderte von mit gelbem Schleim erfüllter Bündel. An-dere Bündel, vorzüglich auf einer Seite, waren rot resp. braun und auf dieser Seite fand ich ein Mycel, welches in Kulturen eine langgeschnäbelte *Sphaeronema* ergab. Darum konnte ich die roten Pigmente nicht als Symptome der Gummikrankheit mit Sicher-heit erhalten, und ich dachte nicht mehr daran, aber aus dem Folgenden sehen wir, daß es nicht ganz zufällig war. Das Mycel selbst war augenscheinlich eine Erscheinung ganz untergeordneter Art.

In Petri-Schälchen, in welche Nähragar-Agar gegossen war, war es sehr leicht, mit den wohlbekannten Vorsichtsmaßregeln hinsichtlich oberflächlicher Reinheit einen gelben Organismus aus diesem gelben Schleime zu isolieren, und zwar in wirklichen Rein-kulturen. Plattenkulturen von zwei Rohrstämmen, wovon eine (I) viel frischer als die andere (IV) war, wurden angefertigt. Auf der von weißen und gelben Bakterien (IV) gemachten Platte kamen Kolonien von Schimmelpilzen vor und war wenig anderes als der gelbe Cobbsche Organismus zu sehen, nur zerstreute Kolonien von anderen Bakterien. Die Inokulationen waren folglich aus gelben Kolonien vom Rohrstamm (I) gemacht. Diese gelben Kolonien waren zahlreich und gleichförmig. Auf den Petri-Schälchen waren keine Mycelpilzkolonien und keine roten Bak-terien zu sehen. Das morphologisch-mikroskopische Bild sowie die Resultate der Plattenkulturen stimmten überein; alles deutete auf nur einen Organismus in den gelben, schleimerfüllten Bündeln

hin. Dieser Organismus war ein gelber, kurzgegliederter, durch ein polares Flagellum beweglicher Schizomycet, den ich zum Genus *Pseudomonas* als *Pseudomonas vascularum* (Cobb) rechne. Die Beweglichkeit scheint in jungen Kulturen viel klarer zu sein als in alten oder wenn die Bakterien im Gefäße der Rohrbündel gedrängt sind. Dieselbe begrenzte Beweglichkeit kommt aber auch bei vielen anderen Bakterien vor.

Als ich jetzt Reinkulturen im Ueberfluß besaß, prüfte ich die von Greig Smith beschriebenen kulturellen Eigentümlichkeiten des Organismus. Im großen und ganzen waren diese von Smith richtig angegeben. Alle Zweifel, daß ich nicht dasselbe Bakterium in Händen hatte, waren durch diese Studien widerlegt. Es war dasselbe Bakterium, das Greig Smith beschrieben hatte. Ich muß daher auch annehmen, daß es kein anderes sein konnte, als das, welches Cobb 1893—1895 beschrieben hatte.

Die nächste Frage, und zwar die interessanteste, sowohl vom ökonomischen als pathologischen Standpunkte aus, war die: Konnte ich die Gummikrankheit des Zuckerrohrs mit diesem Organismus erzeugen? Waren Cobbs Andeutungen richtig, wie es schien, oder waren sie eine irrige Vermutung, wie so viele andere in der Pathologie?

Glücklicherweise hatte ich zu dieser Zeit gesunde Zuckerrohrpflanzen von vier Varietäten im Gewächshaus, welche von Plantagen aus Süd-Georgia stammten. Diese waren etwa 3 Monate aus gesunden Stecklingen im Gewächshaus gezüchtet worden und in gutem Wachstum, etwa 4 Fuß hoch, mit vielen Blättern. Die Ansteckungsfähigkeit dieser Organismen konnte daher durch Impfung geprüft werden.

Die Impfungen wurden durch Nadelstiche ausgeführt, und zwar auf zwei Blättern jeder Pflanze, etwa 1—2 Fuß vom Stamme entfernt. Jedes Blatt erhielt 20—30 kleine Nadelstiche auf etwa 4 qcm, aber keine Einspritzung. Nur zwei Pflanzen waren in den Stamm gestochen, etwa 2 Fuß vom Grunde entfernt, gaben aber kein verschiedenes Resultat. Die Impfungen wurden mit gelbem Schleim aus drei Kartoffelkulturen, welche die 5 Subkulturen aus den Plattenkolonien waren, gemacht¹⁾. Bis zur ersten Nacht schützte ich, wie es meine Gewohnheit ist, die geimpften Blätter mit reinem Papier vor dem Licht, die Nadelwunden waren aber nicht von der Luft abgeschlossen, was nicht naturgemäß gewesen sein würde. Eine halbtropische Temperatur wurde im Gewächshause gehalten und die Pflanzen wuchsen schnell.

In den ersten Wochen nach der Impfung waren keine Symptome bemerkbar, d. h. die Nadelstiche selbst hatten keine hervorgerufen. Viele Blätter waren auch mit reiner Nadel punktiert, und zwar mit viel mehr Stichen als die inokulierten, aber Folgen entstanden nicht, wie zu erwarten war. Erst etwa 3 Wochen nach der Impfung waren an den geimpften Blättern weiße Streifen zu sehen, welche bald mit röt-

1) Plattenkulturen No. VIII aus Stamm No. 1, gefertigt am 6. Oktober; Kartoffel, am 30. Oktober; Kartoffel, am 4. Dezember; Gelatine, am 11. Dezember; Fleischbouillon, am 27. Januar; Kartoffel, am 29. Januar; Inokulationen, am 6. Februar.

lichen oder braunen toten Flecken und Streifen besetzt waren. Diese Streifen hatten ihren Anfang im geimpften Teile des Blattes, und pflanzten sich langsam auf und ab fort. Für einige Wochen waren keine mehr zu sehen, dann zeigten sich weiße Streifen auf anderen Blättern und etwas später rote resp. braune Streifen mit Schrumpfung des Blattparenchyms im Streifen. Zu dieser Zeit fiel auch die Zwergartigkeit auf und war am Ende sehr bemerkbar. Die Reihe der geimpften Pflanzen blieb viel kleiner als die der ungeimpften. Nach etwa 3 Monaten waren die geimpften Blätter und auch einige andere große Blätter zusammengeschrumpft, und die am Gipfel stehenden Sprosse waren in bakteriöse Fäulnis übergegangen. Zu dieser Zeit waren noch nicht alle Blätter tot und die wohl entwickelten Teile des Rohrstammes waren grün und äußerlich gesund. Auch wuchsen in einigen Exemplaren Sprosse und Wurzeln von der Basis heraus.

Etwa 12 Pflanzen waren zuerst von der Varietät, gewöhnliches grünes Rohr („Common Green Cane“), geimpft und alle haben früher oder später diese Symptome gezeigt.

Als die ersten Symptome bemerkbar waren, durchschnitt ich einige der geimpften Blätter und konnte in den Gefäßbündeln bis zu etwa 18 cm aufwärts und auch nach unten die Bakterien in den Gefäßen mit dem Mikroskop leicht demonstrieren. Dieses war 30 Tage nach der Impfung.

Später, als sich allgemeine Symptome entwickelten, zerschnitt ich alle geimpften Pflanzen, eine nach der anderen, und durchmusterte sie nach allen Richtungen. Die inneren Krankheitszeichen waren am klarsten. Man konnte nichts besseres wünschen oder erhalten von irgend einem Experiment. In jedem Stamme waren viele Bündel mit gelbem bakteriellen Schleime erfüllt, welcher in kleinen Tropfen herausfließt, wenn man den Stamm durchschneidet. Alles war, wie Cobb es beschrieben hat und wie ich selbst es in den aus Australien erhaltenen Zuckerrohrstämmen gesehen hatte, mit Ausnahme der Abwesenheit einiger saprophytischer Bakterien, welche bei 6-wöchentlicher Weltfahrt sich auf dem australischen Rohrstamme angesiedelt hatten. Nach oben, eng unter dem gipfelständigen Sproß, wo das Stammgewebe zart und nicht wohl entwickelt war, blieb der Schleim nicht in den Bündeln. Hier war auch das Parenchym angegriffen, und zwar so, daß große oder kleine, mit gelbem Schleim erfüllte Höhlen entstanden waren. Einige von diesen Höhlen enthielten mehr als einen Teelöffel gelben Schleims. Auch war dieser Schleim in einigen Bündeln an der Basis und dem mittleren Teile vieler nicht geimpfter Blätter zu finden, d. h. Blätter, welche von Stammbündeln aus infiziert waren. Die innere Fläche vieler Blattscheiden war nach einigen Monaten auch rot oder braun gefleckt und klebrig durch Ausschwitzung des Bakteriums. Bei den inneren Blättern der gipfelständigen Knospe waren diese Verklebungen so weit vorgeschritten, daß die Knospe nicht durchschießen konnte und zickzackartig zu sich selbst gekrümmt und geballt bleiben mußte, wodurch die gipfelständige Knospe nach außen etwas keulig erscheint. Unter dem Mikroskope geprüft, zeigte dieser gelbe Schleim Millionen von Bakterien, aber keine Hyphen-

pilze, Nematoden oder Insekten. Diese Bakterien waren morphologisch ganz dieselben wie jene, welche ich in dem Rohre gesehen habe, welches ich aus Australien erhielt. Natürlich konnten, wenn die Herzfäule weit vorgeschritten ist, auch andere, z. B. weiße Bakterien und auch Mycelpilze, darin gefunden werden, so z. B. im aus Australien erhaltenen Stamm No. IV.

Die mit Agar-Agar aufgegossenen Platten gaben in Petri-Schälchen reichlich in reiner Kultur denselben gelben Organismus, welchen ich aus dem australischen Rohre erhalten hatte und welchen ich mit Nadelstichen in die Zuckerrohrblätter eingimpft hatte. Mit denselben Resultaten wurden Platten von verschiedener Höhe im Stamme und von mehreren Stämmen gegossen. Die Bakterien wurden in ungeheurer Menge in reiner Kultur in gelben Bündeln des Stammes gesammelt. Auf Kartoffeln, Agar-Agar, Gelatine u. s. w. gezüchtet, zeigte der gelbe Schleim dem unbewaffneten Auge und auch unter dem Mikroskop dieselben Eigentümlichkeiten wie der bakterielle Schleim, welcher geimpft war. Ich halte folglich die Aetiologie dieser Krankheit für festgestellt. Die Gummikrankheit des Zuckerrohres muß als eine rein bakterielle Krankheit betrachtet werden, deren Ursache dem gelben *Ps. vascularum* zuzuschreiben ist. Darüber kann kein Zweifel mehr bestehen.

Ein sehr interessantes Symptom habe ich noch nicht erwähnt, und zwar ist dieses nicht bei Cobb angegeben — ich meine die roten Bündel. Von roten Bündeln haben wir viel gehört in Verbindung mit der „Sereh“-Krankheit des Zuckerrohres in Java, und zwar ist Rotwerden als ein untergeordnetes (Oxydations-)Phänomen bei vielen Krankheiten des Zuckerrohres bekannt, aber nie habe ich es schöner entwickelt gesehen als in dem mit Bakterien geimpften Rohre. In den durch Reinkultur erkrankten Zuckerrohrpflanzen (Common Green Cane) waren ohne Ausnahme viele blutrote Bündel zu sehen. Es war ein sehr auffallendes Symptom der Impfung und konnte keiner anderen Ursache zugeschrieben werden. Wovon stammen nun diese Pigmente in Bündeln? Bündelfärbung bei bakteriellen Krankheiten ist nicht unbekannt. Sie kommt bei *Ps. Solanacearum* vor. Auch in süßen Maispflanzen, welche an den Blättern mit *Ps. Stewarti* geimpft sind, bekommen wir eine Bündelkrankheit mit ungeheurer Vermehrung der Bakterien, ganz wie beim Zuckerrohre mit *Ps. vascularum*, hier aber bekommen die Stammbündel eine braune Farbe, welche in den ersten Internodien, d. h. in seit langer Zeit erkrankten Teilen, auch in dem Parenchym zu sehen ist. Auf ganz demselben Wege, wie es scheint, unter dem Einfluß des Bakteriums, wahrscheinlich aber auf andere Stoffe wirkend, bekommen im Zuckerrohre einige Bündel eine rote Färbung. Ich sehe sie als eine Rückwirkung der Pflanzen an. Nach Prinsen Geerlings existiert in der Cellulose des normalen Zuckerrohres ein neutraler, schwerlöslicher, nicht gefärbter Stoff, welcher beim Alkali ins Gelbe übergeht, bei Durchlüftung aber ins Rote und endlich ins Braune. Die Natur dieser Substanz ist unbekannt. In solchen Bündeln waren meistens (nicht immer) die Bakterien nicht mehr zu sehen, an Stelle derselben aber rote umgestaltete Massen. Rote und gelbe

Bündel waren im Stamme vermischt und oft war auch dasselbe Bündel rot und gelb, d. h. bunt oder marmoriert. Dasselbe kommt in Mais, der mit *P. s. Stewarti* geimpft ist, vor. Aber hier sind gelbe mit braunen Bündeln vermischt. Das rote Pigment war am reichsten in den Knoten und den Zwischenknoten eng unter den Knoten. Die Zunahme des Pigmentes in und nahe unter den Knoten wurde bei vielen Knoten geprüft. In allen Fällen waren mehr Pigmente im oberen als im mittleren oder unteren Ende der Zwischenknoten, aber am meisten in den Knoten, wo oft viele, ja beinahe alle Bündel rot waren wie Blut. Viele chemische Analysen von verschiedenen Teilen des Zuckerrohres sind erschienen, aber vielleicht keine der abwechselnden Anhäufung organischer Verbindungen, welche diese seltsame Erscheinung deutlich erklären können. Aber vielleicht beruht sie nur auf stärkerer Durchlüftung durch Blattstränge in und dicht unter dem Knoten als oberhalb desselben. Im Zuckerrohr wie im Mais scheint das Pigment nicht im ersten Stadium der Invasion aufzutreten, am liebsten aber, wenn die Bündel einige Zeit krank sind. Jedoch darf man nicht annehmen, daß das Rotwerden der Bündel ein eigentümliches Symptom der Gummikrankheit ist. Es kommt auch bei ganz anderen Krankheiten vor, wie ich selbst in westindischen Plantagen gesehen habe. Um sicher zu sein, muß man den gelben bakteriellen Schleim in den Vasasträngen finden, was gewöhnlich bei dieser Krankheit leicht ist. Nur wenn sie schwach in sehr resistentem Rohre auftritt, ist das Erkennen der Krankheit etwas schwierig. Vielleicht wird die Bildung des Pigments auch nicht bei allen Varietäten des Zuckerrohres so bemerkbar sein als in „Common Green Cane“.

Etwas später wurden unter denselben Bedingungen zwei andere Varietäten von Zuckerrohr inokuliert, nämlich Louisiana No. 74 und Common Purple Cane, das beliebte Zuckerrohr der Vereinigten Staaten, aber mit ganz anderen Resultaten. Beide Varietäten waren sehr widerstandsfähig gegen diese Krankheit. Mit Ausnahme von einigen klaren, aber gering oder langsam vorschreitenden Symptomen in geimpften Blättern und auf einigen wenigen anderen Blättern, kamen oberflächlich keine Symptome zum Vorschein, auch nicht im Innern des Stammes, oder sie waren viel leichter als in „Common Green Cane“. Gewöhnlich war der inokulierte Stamm am Ende etwas zwergartig, obgleich er am Anfang der kräftigste war.

Woher kommt nun die Immunität gegen diese Krankheit? oder worin liegt die Ansteckungsfähigkeit? Es ist dies ein sehr interessantes und vielleicht auch ein sehr kompliziertes Problem. Nur einige Bemerkungen sollen hier Platz finden. Bevor ich die hier beschriebenen Inokulationen ausführte, habe ich den frisch ausgequetschten Saft wohl ausgewachsener, gesunder Stöcke aller drei Zuckerrohrvarietäten, welche mir zur Hand waren, mit Phenolphthalein und Aetznatron titriert, um deren Acidität zu probieren. Nach diesem Titrieren war der Saft des „Common Green Cane“ am schwächsten bezüglich der Acidität. Auch in Reagenzgläsern sterilisiert, gaben Scheiben des „Common Green Cane“ ein Kulturmedium, auf welchem *P. s. vascularum* viel besser gedieh als auf Stücken anderer Rohrzuckervarietäten. Alle Stücke waren schief geschnitten, in eine

kleine Menge destilliertes Wasser gesteckt (nur das untere Ende) und an 3 Tagen einige Minuten täglich im Dampfsterilisator erhitzt. Es waren diese unerwarteten Resultate, welche mich zu dem Entschluß führten, das „Common Green Cane“ als erstes Ansteckungsmaterial zu nehmen. Ich dachte, das Rohr sei mehr empfänglich als die anderen Varietäten, und so hat es sich wirklich schließlich auch gezeigt. Die anderen Varietäten waren hundert-, ja tausendfach mehr widerstandsfähig gegenüber der Nadelinfektion mit diesem Organismus. Die Mehrzahl zeigte nur lokalisierte Symptome auf geimpften Blättern oder Stämmen. Von Symptomen auf anderen nicht inokulierten Stämmen des Rohrstuhles war nichts bemerkbar, sogar nach vielen Monaten nicht. Einige der inokulierten Stämme zeigten zwar eine Zwergartigkeit mit sekundären Symptomen auf den Blättern, aber nach 6 Monaten, als es zum Zerschneiden kam, waren meistens nur einige rote Bündel im Stamme zu sehen, aber auch in sehr kleinen Mengen in zwei Stämmen Bündel mit gelbem Schleim. Diese roten Bündel kamen nur in Knoten und Zwischenknoten neben Insertionsstellen der infizierten Blätter vor und waren in den größten Partien der wohlentwickelten hohen Stämme weder oben noch unten zu finden.

Wir können diese Tatsache auf folgende Weise kurz zum Ausdruck bringen:

Varietät	Die Säure des Saftes in cem N. NaOH pro l	Wachstum des Bakteriums auf in Wasser sterilisierten Scheiben des Rohres	Die Krankheits-empfindlichkeit
Common Green Cane	19,00	gut	sehr groß
Common Purple Cane	—	schlecht	ganz leicht
La. No. 74	31,00	"	" "

Es sei hier auch bemerkt, daß das „Common Green Cane“ dasjenige Rohr ist, welches am liebsten zum Essen kultiviert wird, was nicht der Fall sein würde, wenn der Saft sehr sauer wäre.

Ein Zuckerchemiker, mit dem ich darüber gesprochen habe, glaubte nicht, daß wohlbegründete Resultate von einzelnen Rohrstämmen deduziert werden können. Nach seiner Annahme würde vielleicht das nächste Titrieren andere Resultate ergeben. Um die vergleichende Acidität des Stammsaftes verschiedener Rohrzucker-varietäten zu erkennen, muß die Prüfung immer mit gemischtem Saft vieler Rohrstämme jeder Varietät gemacht werden. Dagegen sage ich nichts. Es mag wohl so sein. So vieles hängt von wechselnden Faktoren, z. B. Erde, Mist, Sonnenschein, Regen, Jahreszeit, Reifung, Lagerung u. s. w. ab. Ich weiß aber nicht, ob ein Chemiker den Saft von Rohrzuckervarietäten auf den stufenweisen Grad der Acidität geprüft hat. Vom pathologischen Standpunkte aus glaube ich, daß dies sehr interessant sein würde. Viele Bakterien gedeihen in sauren Kulturmedien nicht gut und oft wirkt ein kleiner Ueberfluß antiseptisch. Auch stimmt es wohl mit vielen Tatsachen in der Pflanzenphysiologie überein, daß einige Varietäten von Rohrzucker einen höheren Grad von Säure im Stamme haben können als andere Varietäten, und vielleicht beruht die hohe Empfänglich-

keit einiger Rohrzuckerarten gegenüber diesem Parasiten nur auf der schwachen Acidität oder dem minimalen Auftreten einer spezifisch hindernden Säure. Die Immunitätsverschiedenheit ist deutlich, wie immer die Erklärung sein mag. Meine Infektionen sind nicht der einzige Beweis. Cobb hatte die Widerstandsfähigkeit einiger Varietäten schon im Jahre 1895 bemerkt und diese zur Wiedereinsetzung in die Rohrzuckerfelder empfohlen. Noch in den letzten Jahren hat er mir geschrieben, daß, insoweit sein Rat befolgt worden ist, die Krankheit verschwunden sei. Wir haben deshalb den besten Beweis, daß diese Krankheit leicht zu überwinden ist, nämlich durch Pflanzung widerstandsfähiger Arten. Alle Plantagenbesitzer, welche diese Krankheit schädigt, sollten wenigstens diese Methode einer sorgfältigen Prüfung unterwerfen.

Es bleibt noch die Frage der Sereh. Ist diese australische Gummikrankheit dieselbe wie die javanische „Flucht“ des Zuckerrohres?

Die Symptome sind meistens ganz ähnliche, z. B. rote Bündel, Zwergartigkeit, Verkürzung der Internodien, Albicatio, Aussprossen der Knospen, Fortpflanzung durch infizierte Stecklinge, keulige, gipfelständige Knospen u. s. w. Da ich nie Sereh gesehen habe, kann ich nichts darüber sagen. Valetton, Janse und Krüger haben Sereh als eine Bakteriose der Gefäßbündel betrachtet, aber ich weiß nicht, ob sie gelben Schleim in den Bündeln gesehen haben. So viel ich gelesen habe, sprechen sie nur von rotem Gummi. Von Wakker, Went u. a. werden diese Annahmen bekämpft. Went hat im letzten Jahre aber, auf seine Beobachtungen in Westindien gestützt, seine frühere Ansicht, betreffend Mycelpilze als Ursache der Sereh, zurückgenommen. Nur das scheint ziemlich wohlbegründet, daß Sereh nicht nur in Java vorkommt (nach Krüger auch in Malakka, Borneo und Bangka) und die Cobbsche Krankheit nicht nur in Australien, sondern auch in Java, Mauritius und Brasilien herrscht. Es würde sehr nützlich sein, wenn ein gut gebildeter Bakteriologe von neuem die Sereh in Java gründlich studieren wollte. Eine so viel auf dem Zuckerrohre herrschende Krankheit ist von allgemeinem Interesse. Vielleicht sind zwei oder mehrere verschiedene Krankheiten unter diesem Namen vereint, wovon eine diese Bakteriose sein mag.

Anhang. Da ich mit anderen Arbeiten sehr beschäftigt war, blieb das Manuskript dieser Arbeit ein Jahr im Schreibtisch, inzwischen sind mit Reinkulturen aus den oben genannten Pflanzen andere Pflanzen geimpft worden und jetzt erkrankt.

1. Oktober 1904.

Inhalt.

Originalmittellungen.

Gordan, P., Eignet sich Wasserstoff-superoxyd zum Sterilisieren der Milch? p. 716.

Jensen, Orla, Studien über die flüchtigen Fettsäuren im Käse nebst Beiträgen zur Biologie der Käsefermente. (Forts.), p. 687.

Krasnosselsky, T., Atmung und Gärung der Schimmelpilze in Rollkulturen, p. 673.

Löhnis, F., Ueber Nitrifikation und Denitrifikation in der Ackererde, p. 706.

Smith, Erwin F., Ursache der Cobbschen Krankheit des Zuckerrohres, p. 729.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof.
Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr.
Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W. 50, Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XIII. Band.

Jena, den 28. Dezember 1904.

No. 24.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

A review of the *Bacillus subtilis* group of bacteria.

By Frederick D. Chester,

Bacteriologist of the Delaware Agricultural Experiment Station,
Newark, Delaware, U. S. A.

By the *Bacillus subtilis* group is understood those members
of the genus *Bacillus*, as defined by Migula, which produce
spores, liquefy gelatin and grow under aerobic conditions.

The confusion existing in this group of bacteria is great; bad
species occur in the literature, and good species have been wrongly
identified by bacteriologists from whom cultures were obtained.
Bad species have been created because too much dependence has
been placed upon a few fortuitous cultural characteristics, and because
there has been no well established basis of differentiation of species,
possessing permanent value.

The admirable researches of Gottheil¹⁾ on the members of

1) Gottheil, Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien. (Centralbl.
f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. 1904.)

this group, and the various contributions of Arthur Meyer¹⁾, epitomized in the recent work cited below, has laid a strong foundation for future work in systematic bacteriology, in showing the value to be placed upon morphological characters. Particularly is this true of the higher spore forming bacilli.

In fact the essential features of the present system of classification of the *B. subtilis* group are morphologic rather than cultural. In this respect it is believed a decided advance has been made.

I. The morphology of the group.

a) Measurement and sizes.

All measurements were made from preparations as follows:

Two oeses of a 10 per cent. formalin solution are deposited on a slide, and with it is incorporated a portion of the culture. To this is added one oese of a 1:10 fuchsin solution, and the two portions mixed. After one minute a cover-glass is placed over the whole. A drop of water is then placed on the edge of the cover-glass, the water drawn under and the stain removed by means of bits of filter paper held to the opposite edge of the cover-glass. A sufficient number of the organisms will remain attached to the glass.

When the preparation is clear it is examined. With a $\frac{1}{12}$ inch oil-immersion and a $\frac{1}{2}$ inch ocular, with the tube drawn to the 160 mm length, camera-lucida drawings are made of bacilli and spores.

With a stage micrometer, one mm in hundredths, a similar drawing is made of a 10 micron space, with the same amplification. This is then divided into 10 equal parts each of which is one micron.

The scale once made answers for the measurement of all future drawings, and enables one to measure within one tenth of one micron.

The members of this group divide themselves into two classes as regards the diameters of the vegetative rods.

1) Those whose diameter is less than one micron, including *B. mesentericus*, *B. asterosporus*, *B. subtilis*, *B. simplex* and *B. fusiformis*.

2) Those whose diameter exceed one micron, varying from 1,2 to 1,5, including *B. ruminatus*, *B. cereus*, *B. mycoides*, *B. tumescens* and *B. megatherium*.

The principal value of measurements applies to the sizes of spores which are more constant and vary within narrower limits. They include three sizes as follows:

1) Small spores, 0,5—0,6 microns in diameter, including *B. mesentericus*.

2) Medium sized spores, with an average of 0,8 microns in diameter, including *B. cereus*, *B. mycoides*, *B. subtilis*, *B. simplex*, *B. tumescens* and *B. fusiformis*.

3) Large spores, 1,0—1,6 microns in diameter, including *B. megatherium*, *B. ruminatus* and *B. asterosporus*.

The experienced eye will readily learn to distinguish at a glance these three general sizes, and important information can be gained at once.

1) Meyer, A., Praktikum der botanischen Bakterienkunde. Jena 1903.

b) Staining.

The preceding method is applicable for the staining of spores. For the staining of vegetative rods and sporangia a smaller amount of the stain effects a better differentiation of the cellular contents. The proper amount as well as the period of staining can only be known by experience.

c) The use of the agar "hanging-block".

The method of staining as already described is valuable for the study of the structure and morphology of individual cells, but in the incorporation on the slides cellular orientation is disturbed.

The study of cellular orientation has an important bearing on species differentiation, and can best be observed in the agar hanging-block method of Hill¹⁾.

The culture cells were made of hard rubber rings, 19 mm in diameter and about 3 mm in thickness, cemented with Canada-balsam to ordinary glass slides.

The cover-glasses used were of the same diameter as the rings, and were held in place and sealed with vasaline smeared on the upper surface of the ring.

To prepare the cultures ten cubic centimeters of melted agar is poured into a 100 mm Petri dish, and allowed to solidify.

With a sterile knife a square of solid agar, 8—10 mm each way is cut, the block lifted and placed on a previously sterilized glass slide, and the whole protected from dust by covering with a bell-glass.

A well spored agar culture is taken and a heavy suspension of the organism made in a cubic centimeter or so of sterile broth. This is placed in a water bath and heated for 10 minutes at a temperature between 75° and 80° C. One oese of the heated suspension is then taken and deposited upon the uppermost surface of the agar-block. A cover-glass, which has been previously sterilized in the flame and cooled, is then laid upon the agar-block.

With a sterile needle run beneath the agar-block, and the simultaneous lifting of the cover-glass, the whole can be elevated with the agar-block suspended to the lower slide of the cover-glass. This is then laid upon the ring whose upper surface, as before stated, has been smeared with a little vasaline. The culture is then kept at any desired temperature and observations made at intervals of spore germination and subsequent stages of development.

d) The structure of the spore.

Spores in the several species are differentiated (1) by their size (2) by their form and (3) by the character of their walls. These points have been thoroughly discussed by Arthur Meyer (loc. cit.), and by Gottheil²⁾ in his exhaustive memoir on the organisms of this group. A brief review of certain of their features is however necessary, in this place, as explanatory of the system of classification herein adopted.

Reference has already been made to variations in the sizes of spores.

As regards their form several characteristic types are observed:

1) "Hanging-block" preparations for the microscopic observation of developing bacteria. (Journ. of Medical Research. Vol. VII. 1902. N. 2.)

2) Gottheil, Centralblatt f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. VII. 1901.

- 1) The typical reniform spores in *B. megatherium*.
- 2) The small elongated spore of *B. mesentericus*.
- 3) The frequent quadrangular, pointed forms in *B. ruminatus*.
- 4) The round or barely elongated spore in *B. fusiformis*, and
- 5) The prevailing oval or elliptical forms seen in the other species.

Further than this spores differ as regards the structure of their walls.

If spores of *Bacillus subtilis* be stained in the manner already described, each spore will show two distinct parts, an inner unstained central body, and an outer rather deeply stained wall or membrane. This wall is relatively thin, without differentiation of parts. If on the other hand a similar treatment be accorded the spores of *B. ruminatus* it will be noted that the colorless central body is surrounded by a relatively thick wall or capsule. This latter is really composed of three distinct parts, so far as staining will differentiate them, i. e., an outer thin deeply stained membrane, an inner very delicate portion immediately surrounding the central body, and an intermediate faintly stained portion.

These extreme inner and outer portions of the spore membrane have been termed by Meyer intine and exine respectively, and use has been made of these terms in the present classification.

Whether there are three distinct structures in such capsules cannot be decided only so far as they are indicated by staining reactions. This much, however, is certain, that such spores have a broad capsule surrounding the central body in place of the relatively thin wall in other species, and that the outer and inner portions of this broad capsule are differentiated by staining more deeply than the body of the capsule.

e) Spore germination.

In the members of this group germination takes place in two ways (1) by protrusion and (2) by stretching and consequent rupture.

In germination by protrusion the germinal rod ruptures the wall at one point or at two opposite points.

In germination by stretching the central body enlarges, the spore wall is stretched, and ruptures along the line of greatest tension and greatest consequent attenuation.

There are two modes of spore germination, the polar and the equatorial.

Polar germination is always by protrusion while equatorial germination may be by protrusion and by stretching, the latter resulting in an equatorial rupture of the spore membrane.

In polar germination the germinal rod ruptures the spore wall at a pole, the longer axis of the rod is consequently parallel or continuous with the larger axis of the spore.

The spore membrane, although finally cast off, sometimes remains for a time attached to the rod as a cap.

It is best illustrated in *B. cereus*.

Sometimes the germinal rod is seen to emerge from both poles, constituting the so-called bi-polar germination. In this case the spore membrane remains attached to the middle of the rod as a ring, as seen in *B. simplex*.

In equatorial germination the rod emerges sometimes at the equator, and in a direction at right angles to the longer axis of the

spore, the strictly equatorial, or it may emerge at some point between the equator and a pole and take a position oblique to the longer axis.

This may be especially designated as oblique germination, and it is quite invariably associated in the same culture with the strictly equatorial. It is therefore to be classed as a phase of equatorial germination.

In germination by stretching there is a stretching and rupture of the equatorial zone of the cell wall. It is accompanied by a marked enlargement of the spore in all directions, or in two opposite directions. In the former instance the enlarged spore commonly assumes a reniform outline.

This enlargement continues, the germinating body becoming more strongly reniform or bowed. As a consequence the line of greatest tension is on the convex side and rupture takes place here.

At this stage the germinal rod, which is now nearly free, may become strongly bowed, and shows the remnant of the spore membrane spanning the free ends of the horse-shoe.

f) The vegetative stage.

When the germinal rod emerges from the spore it enters the vegetative stage. The vegetative rods vary in diameter from 0,7 to 1,5 microns. For the same species the diameter varies within narrow limits, within 0,1—0,2 of a micron, except in the case of involution forms. The lengths of the vegetative rods vary with environmental conditions and may be classified as follows:

Short rods, lengths 2—4 times their diameters.

Long rods, lengths 4—8 times their diameters.

Filaments longer than the latter.

All three forms may occur in any single culture, but there is generally a tendency to longer or shorter forms in 12—18 hour agar-cultures, notably the predominance of short rods in *B. mesentericus* and long rods in *B. subtilis*, *B. simplex* etc.

The general tendency in all the members of this group is the division of a rod by one or more septae, the shorter rods being uniseptate and the longer rods multi-septate.

This septation results in the formation of shorter vegetative cells than those found immediately following germination.

The septation is followed by a constriction and the formation of a chain of shorter cells, or of individual swimmers.

The individual rods may be straight, more or less bowed or undulate.

They are usually united in chains of greater or less length and may be designated short chains, consisting of 2—8 elements, or long chains of more than eight. The form of the chains depends on the form and orientation of the individual elements.

Curved elements with the same orientation produce curved, bowed or horse shoe forms as in *B. ruminatus*. Curved chains with opposite orientation produce undulate chains.

Straight rods with similar or nearly similar orientation produce straight or only slightly bowed chains as in *B. mycoides* and *B. cereus*; an irregular orientation crooked chains as in *B. subtilis*.

The orientation of the chains produces types of structures which

express themselves in growth forms. The subject will be discussed in the section on the morphological basis of cultural features.

g) The swarming stage.

The vegetative rods immediately after germination may show motility as in *B. mesentericus*, and this may continue for 48 hours up to the formation of spore bearing sporangia; or the vegetative rods may have a period of active vegetation, motile rods not appearing for 4 to 12 hours after germination. The motility may continue up to the time of spore formation, but usually as in *B. cereus* it is followed by active vegetation and septation, preceding the formation of sterile and fertile sporangia.

The swarming stage may therefore in different species commence at different stages in the life of the organism, and persists for different intervals of time.

In *B. ruminatus* the motility is very slight, and is observed with difficulty. In other forms there is great activity, persisting as much as 48 hours.

The duration of the swarming stage, and the character of the motility has therefore an important bearing on the differentiation of the organism, and also an important relation to certain cultural characteristics as will be seen later.

h) The sporangium stage.

The vegetative stage, including the swarming stage, is followed by the septation of the longer vegetative rods, and their separation as individual cells, whose special function is to produce spores. These specialized cells have been termed by Meyer sporangia.

They vary greatly in form from short rods to elliptical shaped cells, or they may be variously swollen, either clavate, swollen at one end, or spindle shaped, swollen in the middle. They may also, as in *B. ruminatus*, be quadrangular in form, when united in chains.

The sporangia may occur singly, but in certain species they remain united in chains of various lengths.

In certain species the sporangium wall disintegrates and the spores are set free and occur "naked", in others as in *B. cereus* and *B. mycoides* the sporangium wall is more refractory, and for a long time, even up to spore germination, continues to surround the spore, or becomes shrunken and remains attached to one or both poles of a spore.

The above feature is one of considerable diagnostic import.

I. The cultural features of the members of the group.

Cultural characters are expressions of morphological features and vital activities; and as these differ in different species, cultural characters undergo corresponding variations.

With the same strain of an organism, or with different strains of the same species, cultural characters will vary, dependent partly upon the organism and partly upon its environment. This being the case it is important to study as many strains of the same organism as possible, to cultivate them for a sufficient number of generations, and thus to note ranges of variation in cultural characteristics.

This comparative method of study also enables one to distinguish

between those cultural characters which are constant, and of differential value, and those which are variable.

Only constant characters should be given specific rank. New species have been in many cases wrongly established because some extreme term in a variable character has been given specific rank and made the basis of specific differentiation.

The result of the present study, which has involved the examination of numerous cultures in frequent generations, has been toward unity. Forms which at first sight appeared distinct have been continually found to be one and the same, and this unification has been made possible by discarding variable characters, and retaining as a basis of specific differentiation only those which were constant.

These constant cultural characters form the salient features of a species, and enable the trained eye to recognize at once the organism in question.

The cultural features of the members of the *B. subtilis* group will be considered under the separate headings as follows:

Colonies. The orientation of bacterial cells into aggregations or colonies produces certain types of structure as follows:

I. The round, compact, more or less convex, distinctly bordered colony. Such colonies on account of a certain convexity are opaque centrally, and show structure only at the border where the growth is thinner. Here we may observe a) a granular structure due to individual cells or very short chains, as in agar colonies of *B. tumescens*, b) the typical floccose structure due to short curved chains, which are closely interwoven, as in agar colonies of *B. ruminatus*.

II. The thin, flat, irregular to ameboid colony, of granular structure, composed of individual cells or short chains. This mode of growth is a product of active vegetation and active persistent motility. It is best seen in agar colonies of *B. mesentericus* and *B. subtilis*.

III. The roundish to irregular to ameboid colony, composed of curved or coiled chains in parallel orientation, producing the typical curled colony seen in *B. cereus*.

IV. The irregularly branched or rhizoid colony, composed of aggregates of parallel strands of chains, which show multiple branchings, as in agar colonies of *B. mycoides*.

V. The filamentous colony composed of long interwoven chains and filaments, as in deep agar colonies of *B. cereus* etc.

A radiate arrangement of the latter produces the characteristic mycelioid variety, as seen in deep gelatin colonies of *B. mycoides*.

These different types of structure may be variously intermingled, due to variations in cellular orientation, while the existence or persistence of any one type is dependent upon a uniformity of such orientation.

In the case of liquefiers, which include all the members of the present group, gelatin colonies are less characteristic than those on agar, the liquefaction disturbing the natural orientation of the cells.

The consistency of the gelatin which affects rate of liquefaction, or the rapidity with which different strains of the same organism liquefy the medium will singly or together materially affect the character of gelatin colonies.

Agar stab cultures are admirable expressions of cellular

orientation. There are two distinct types. 1) The filiform to beaded and 2) the plumose to arborescent. The former is characteristic of those species which produce individual elements and short chains as in *B. ruminatus*, *B. tumescens*, *B. megatherium*, *B. subtilis* etc., the latter of the long chained forms, as *B. cereus* and *B. mycoides*.

Gelatin stab cultures in the rapidly liquefying forms present little that is characteristic. The form of liquefaction in the same species is subject to variation so much so that it is a character of no differential value. The presence or absence of a surface growth is a valuable character, but this can be equally well observed in broth cultures.

Agar stroke cultures show a number of varieties of growth. It may be membranous as in *B. subtilis*, although this feature is subject to variation, or it may be entirely butyrous as in *B. ruminatus*, *B. tumescens* and *B. megatherium*, or it may be more or less viscid. Coherent growths, whether membranous or viscid, result from the production of bacterial slime, due doubtless to the swelling of the capsules or walls of the vegetative cells, which cements together the cellular elements.

Members of the *B. subtilis* class show a tendency to coherency of growth, but the degree to which this feature is developed varies in different strains. It is therefore a variable character, and without specific rank.

B. graveolens is distinguished from *B. tumescens* by Gottheil mainly on the feature of coherency of growth, in all other respects the two are identical, and on this principle they are considered one.

The topography of the growth is a rather variable character.

A certain peculiar worm-like contouring of the surface, which will be termed a vermiform-contoured surface is common in several species of the present group, but the variations between this and a perfectly smooth growth are noted in different cultures from the same material.

Topographic characters are therefore among the variable ones.

Lustre, while in a measure characteristic, is also subject to variation, and is partly dependent on the character of the agar surface.

The peculiar mottled appearance under a hand lens of the thinner portions of agar smears is notably characteristic of the *B. cereus* class as distinguished from the amorphous structure of *B. ruminatus*, *B. tumescens*, *B. megatherium*, *B. astersporus* and *B. mesentericus*.

B. simplex shows mottling to a less degree.

All the forms of the present group are non-chromogenic in their earlier stages, but older cultures may show the development of some pigment.

Old spored cultures in all the species have a drab tinge. *B. tumescens* develops more or less yellow pigment. *B. ruminatus* and *B. megatherium* a yellow to light rose pigment.

But pigment production is also variable. All in all agar stroke cultures present no strictly constant macroscopic characters, and have value only in connection with other more salient features.

Potato cultures, in this group, have been the ignis-fatui of bacteriologists, leading them astray. The classification of

the *subtilis* bacteria according to growth on potato is one based on an extremely variable character.

The peculiar vermiform-contoured growth is to be sure an eminent feature of the *B. vulgatus*-*subtilis* class, so much so as to be practically constant, but it is by no means confined to this species, and is seen in *B. ruminatus* and sometimes *B. tumescens*.

A vermiform-contoured or otherwise rugose growth on potato is therefore no indication that the organism is *B. vulgatus*.

In the organism mentioned rugosity is a variable feature, and therefore of uncertain value.

Lustre is a variable character in potato cultures, dependent on medium.

Broth cultures show characteristics dependent upon cellular orientation and motility. There are a number of types of growth.

1) The uniform and long persistent turbidity, with no tendency to surface growth, characteristic of species in which the vegetating elements occur singly and possess a long continued motility, as in *B. mesentericus*.

2) The type which shows initial turbidity followed by clearing. The initial turbidity is due to short motile swimmers. In *B. cereus* an initial turbidity is coincident with the swarming stage and ceases when this stage ends.

3) The formation of interwoven chains of non-motile forms, produce floculi in a clear medium, as in *B. ruminatus* and *B. mycoides*. The same manner of growth may be seen, accompanied by a slight turbidity when non-motile floculi are associated with a comparatively few swimmers.

The presence or absence of surface growth is a salient feature of great importance.

In *B. subtilis* it is more or less membranous, due to the coherence of the cells.

In the *B. cereus*-*mycoides* class it is flocculent due to the interweaving of long elements.

In other species surface growths are either lacking or confined to a ring adherent to the glass.

From the preceding discussion it is seen that the cultural characters of an organism are both constant and variable.

The constant characters alone possess specific value, and alone serve to differentiate species.

In the synoptical table which follows beyond it is seen that, excluding variable features, the number of constant characters are sufficient to clearly differentiate the members of this group, especially when we made use of the more constant morphological characters as a primary basis of grouping.

III. The chemical functions of the members of the group.

In the study of the members of the group the following chemical functions have been noted.

1. Reduction of nitrates to nitrites. 2. Gas production in dextrose, lactose and saccharose broths. 3. Acid production from the preceding sugars, and 4. Indol production.

In the determination of acid production in sugar broth titrations

were made at intervals of 3, 6 and 10 days in cultures and blanks kept under the same conditions. The term maximum acidifying coefficient as herein used indicates the maximum amount of acid produced in a culture compared with the titre of the blank expressed as unity.

Thus with a titre in the blank of 0,8 per cent normal acid and a titre in the culture of 1,6 the acidifying coefficient is 2,0.

Unless the maximum acidifying coefficient of a culture was 1,5 or over a positive acid production was not conceded.

Coefficients less than 1,0 indicate a production of alkali.

The following table shows the chemical functions noted in the study of the several species:

Species	Acidifying coefficients range			Reduction of nitrates	Indol	Gas production
	Dextrose broth	Lactose broth	Saccharose broth			
<i>B. asterosporus</i>	2,8	3,0	2,5	+		In all three sugars
<i>B. ruminatus</i>	1,5—2,6	1,1—1,7	1,4—3,0	—		—
<i>B. megatherium</i>	1,3—1,7	1,6—1,8	2,0—4,1	—		—
<i>B. cereus</i>	1,6—3,4	alkaline	1,5—2,8	+		—
<i>B. mycoides</i>	2,2	alkaline	2,7	+		—
<i>B. tumescens</i>	1,5—2,4	0	1,7—2,1	—		—
<i>B. subtilis</i>	1,5—3,0	alkaline	2,0—4,6	+		—
<i>B. simplex</i>	1,0—1,2	alkaline	alkaline	+		—
<i>B. mesentericus</i>	2,3—2,6	1,0	2,1—3,2	—		—
<i>B. fusiformis</i>	alkaline	alkaline	alkaline	—	trace	—

IV. The classification of the members of the *B. subtilis* group.

Until the recent researches of Gottheil and Meyer were published little was known of this important group of organisms. Four so-called species stood prominently before the minds of most bacteriologists, i. e., *B. subtilis*, *B. vulgatus*, *B. megatherium* and *B. mycoides*. The latter form, possessing as it does such marked cultural features, has offered no difficulty in determination. The other three have been variously identified according to uncertain characteristics. Thus the name *B. megatherium* has been indiscriminately attached to all large organisms; *B. vulgatus* to those having the peculiar rough growth on potato; *B. subtilis* to those having the dry mealy growth on the same medium, a surface growth on fluid media, and the peculiar anthrax-like colonies on agar.

During the course of the present investigation cultures of this group of organisms were obtained from prominent American laboratories, and from that of Král in Prag. A careful study of these cultures showed them in the majority of cases to be wrongly named, with no uniformity in the naming of one and the same organism.

This unfortunate condition has emphasized the importance of a careful comparative study of the members of the group. The present system of classification is based upon morphological characters, and cultural features are used only so far as they are of constant value. The following table gives the arrangement of the species studied.

Synopsis of the *Bacillus subtilis* group.

I. Spores oval to elongated.

- A. Spores with a capsule (large), intine and exine differentiated.
- a) Spores with a remnant of the sporangium wall adherent. (Germination predominatingly polar, sporangia swollen, spindled or clavate. Vegetative rods relatively slender, 0,8 micron in diameter. Gas produced in dextrose, lactose and saccharose broths.)
 1. *B. asterosporus* A. Meyer.
 - b) Spores naked. (Germination polar-equatorial-oblique. Cells not enlarged at sporulation. Vegetative rods short, thick, 1,5 microns in diameter, in short coiled and twisted chains.)
 2. *B. ruminatus* Gottheil.
- B. Spores without a capsule, walls relatively thin, intine and exine not differentiated.
- a) Spores large, $2,0-2,7 \times 1,0$ microns, commonly reniform, naked. (Germination equatorial and polar. Cells not enlarged at sporulation. Vegetative rods short, thick, 1,3—1,5 microns in diameter, curved, in short chains.)
 3. *B. megatherium* de Bary.
 - b) Spores medium sized to small, 0,6—0,8 microns in diameter.
 - * Spores surrounded by the sporangium wall, or a remnant thereof adherent. (Germination polar. Cells not enlarged at sporulation. Vegetative rods in long chains in parallel orientation. Agar stab cultures arborescent.)
 - † Agar colonies curled, anthrax-like.
 4. *B. cereus* Frankland.
 - †† Agar colonies rhizoid.
 5. *B. mycoides* Flügge.
 - ** Spores naked.
 - † Spores medium sized, 0,8 microns in diameter, in chains and filaments.
 - § Germination predominatingly equatorial.
 - 0 Vegetative rods short, thick, 1,3—1,5 microns in diameter, in short chains.
 6. *B. tumescens* Zopf.
 - 00 Vegetative rods relatively slender, 0,8 microns in diameter. (Surface growths on fluid media, potato growths rough, vermiform contoured-papillate.)
 7. *B. subtilis*.
 - §§ Germination bi-polar and equatorial, rarely polar. Vegetative cells long, with long filaments. No surface growths on fluid media. Potato growths smooth.
 8. *B. simplex* Gottheil.
 - †† Spores small, 0,6 micron in diameter. Germination equatorial rarely polar. Vegetative rods singly and in twos. No surface growth on fluid media.
 9. *B. mesentericus* Flügge.
- II. Spores round-barely oval. Germination predominatingly polar. Spores without capsule, sporangium wall adherent. Sporangia swollen as in (1), vegetative rods relatively slender.

Table showing the morphological characters

Species	Vegetative cells					Motility
	Form	Dia- meter	Lengths	Orientation of cells	Orientation of chains	
		μ	μ			
<i>B. asterosporus</i>	Straight-slightly bowed	0,8	2,0—8,0	Mostly-singly and in twos	—	Active
<i>B. ruminatus</i>	Straight but commonly bowed, septate	1,2—1,5	5—10	Short chains	Curved-coiled chains, interwoven	Slight, soon after germination, transient
<i>B. megatherium</i>	Straight but commonly bowed, septate	1,3—1,5	5—20	Short chains	Curved-coiled chains, interwoven	6 hours from germination, persists 24—36 hours
<i>B. cereus</i>	Straight	1,2	6—12	Long chains curved-undulate	In parallel orientation	3—4 hours from germination, active, transient
<i>B. mycoides</i>	Straight	1,2	6—12	Long chains	In parallel orientation	Slight
<i>B. tumescens</i>	Straight but commonly bowed, septate	1,3—1,4	3—5	Short-chains 4—12	Curved-undulate, interwoven	Sluggish soon after germination, transient
<i>B. subtilis</i>	Mostly-straight	0,8—0,9	3—9	Chains 2—10	Irregular rarely parallel	8—12 hours from germination, active, persists for 12 hours or less
<i>B. simplex</i>	Straight-curved	0,9	3—5 long septated a filaments	Chains 2—12	Irregular, in most cases	Active in 12 hours from germination
<i>B. mesentericus</i>	Straight or slightly bowed	0,8	2—7	Singly and in twos	Irregular	Active after germination, persists 24—48 hours
<i>B. fusiformis</i>	Straight	0,8	3—5 often septate filaments	Singly and in twos	Irregular	

of the members of the *B. subtilis* group.

Spores				Spore germination	Sporangia	
Sizes	Intine and exine differentiated	Naked	With enclosing or adherent Sporangium membrane		Form	Orientation
Large 1—1,5 × 1,7—2,5	+		+	Usually polar rarely equatorial	Spindled-clavate	Singly
Large 1,3 × 2,0—2,7	+	+		Equatorial and polar	Oval-quad-rangular	In short and long coiled-curved chains
Large 1,0 × 2—2,7 often reniform	—	+		Equatorial and polar	Ovals-short rods	In short chains
Medium 0,8 × 1,5—1,7	—		+	Polar	Oval-quad-rangular short rods	Short and long chains
Medium 0,8 × 1,5—2,0	—		+	Polar	Oval-quad-rangular	Short and long chains
Medium 0,8 —1,0 × 1,5 —2,0	—	+		Prevailingly equatorial, rarely polar	Oval-quad-rangular	In short chains
Medium 0,8 × 1,7—2,0	—	+		Equatorial	Rods often slightly spindled or clavate	Singly, in twos, rarely in short chains
Medium 1,0 × 1,8—2,0	—	+		Equatorial, bipolar, rarely polar	Short rods sometimes slightly spindled	Singly and in short chains
Small 0,6 × 1,0—1,2	—	+		Equatorial, rarely polar	Short rods	Occur singly
Round 1,0	—		+	Polar	Spindled or clavate	Occur singly

Table showing cultural features of

Species	Gelatin colonies	Agar colonies	Agar slant growth
<i>B. asterosporus</i> (1)	Round, crateriform, not characteristic	Round-irregular-ameboid, thin, granular. Type II.	Thin, effused, grayish, opalescent, butyrous
<i>B. ruminatus</i> (2)	Round, crateriform, not characteristic	Round, entire, convex, compact, floccose. Type I.	Thick, opaque, white, later pale yellowish-pinkish, smooth, butyrous
<i>B. megatherium</i> (3)	Round, crateriform, not characteristic	Round, entire, convex, compact. Type I.	As in (2)
<i>B. cereus</i> (4)	Round, crateriform, borders ciliate	Curled, anthrax-like. Type III.	Whitish, opaque, dull, membranous at first, rugose, mottled, butyrous
<i>B. mycoides</i> (5)	Mycelioid-rhizoid-filamentous	Rhizoid. Type IV.	Whitish, opaque, dull, with rhizoid extensions
<i>B. tumescens</i> (6)	Round, crateriform, not characteristic	Round, entire, convex, compact. Type I.	White later pale yellowish opaque, glistening butyrous
<i>B. subtilis</i> (7)	Round, crateriform, borders ciliate	Round, convex-flat, ameboid. Type II.	White, opaque, dull, membranous at first, often rugose and viscid
<i>B. simplex</i> (8)	Round, crateriform, not characteristic	Round, entire, convex, compact. Type I.	Whitish, opaque, glistening, butyrous
<i>B. mesentericus</i> (9)	Round, crateriform, of <i>Proteus</i> type	Type II.	Thin, opalescent, glistening, grayish butyrous
<i>B. fusiformis</i> (10)		Minute punctiform, densely filamentous	Thin, opalescent, glistening, grayish, butyrous

△ indicates a slight growth or development of a character. + — and ±, under

10. *B. fusiformis* Gottheil.

In the following tables are given such additional morphological and cultural features of the members of the group which will serve to differentiate them.

V. History and synonymy of the species studied.

1. *B. asterosporus* (Meyer) Mig.

Astasia asterospora Meyer, Sitzungsber. d. Gesellsch. z. Beförd. d. ges. Naturw. Marburg 1897. Juli; Flora. Ergänzungsbd. 1897. p. 185; Flora. Bd. LXXXV. 1898.
B. asterosporus Migula, System der Bakterien. Bd. II. p. 528.

Material for study. Culture marked *B. asterosporus*, Králs Laboratory.

members of the *B. subtilis* group.

Agar stab	Potato growth	Broth			Milk			Blood serum		
		Turbidity	Becomes clear	Surface growth	Coagulated	Reaction	Peptonized	Growth	Liquefaction	Medium discolored
In depth filiform	Whitish, raised, vesicular, with gas bubbles	Δ	+	—	+	+	— Δ	Δ	—	+
In depth filiform	Whitish-grayish, thick smooth-vermiform, contoured, butyrous	—	+	Ring	±	±	+			
In depth filiform	Whitish, becoming, yellowish, thick, smooth, butyrous	—	+	—	+	+ Δ	+	Δ yls	Δ	+
Arborescent-plumose	White, thick, dry, mealy	+	+	+	—	—	+	+	+	—
Arborescent	As in (4)	—	+	+	±	—	— Δ	+	—	—
In depth filiform	Whitish-pale yellowish, thick, smooth-vermiform contoured, butyrous	Δ	+	— or Ring	+	±	Δ	+	Δ	—
In depth filiform	White, thick, glistening to dull, mealy vermiform contoured-verrucose	+	+	+	+	—	+	+	+	—
In depth filiform	Brownish thick, glistening, smooth	+	+	—	±	—	— Δ			
In depth filiform	Brownish-yellowish brown, smooth, glistening or with folds	+	—	—	—	±	—	Δ yls br.	—	+
In depth filiform	Thin, glistening smooth whitish, later, brownish	+	+	+	—	—	—	Δ yls br.	—	+

reaction, indicate acid, alkaline and amphoteric reactions respectively.

2. *B. ruminatus* Gottheil.

Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 485.

Material for study. Five cultures isolated from Delaware soil.

Culture marked *B. ruminatus*, Králs Laboratory.Cultures from American laboratories variously marked *B. megatherium* and *B. vulgatus*.**3. *B. megatherium* de Bary.**Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, Mycetozen und Bakterien, Syn. *B. petasites* Gottheil, l. c. p. 535.Material for study. Cultures marked *B. megatherium* and *B. petasites*, Králs Laboratory.

4. *B. cereus* Frankland.

B. cereus Frankland, Phil. Trans. Roy. Soc. London. Vol. LXXXVII. 1887. p. 297.

Synonyms:

B. ramosus liquefaciens Flügge, Die Mikroorganismen. 1886.

B. ellenbachiensis Stutzer-Hartleb, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 31.

Material for study. Cultures isolated from Delaware soil. Cultures marked *B. cereus*, *B. ellenbachiensis*, *B. ramosus liquefaciens* from Králs Laboratory. Cultures from other laboratories variously marked *B. subtilis* and *B. megatherium*.

This organism has been mistaken for *B. subtilis* in many cases.

5. *B. mycoides* Flügge.

Wurzelbacillus Eisenberg, Bakt. Diag. 1886. Tab. 4.

B. mycoides Flügge, Die Mikroorganismen. 1886. p. 324.

B. figurans Crookshank, Manual. 1886. p. 324.

B. ramosus Eisenberg, Bakt. Diag. 1891. p. 126.

B. implexus Zimmermann, Bakt. Trink- u. Nutzwässer. 1890.

B. radicosus Zimmermann, l. c.

Bact. casei Adametz, Landw. Jahrb. Bd. XVIII. 1889. p. 248.

B. intricatus Russell, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XI. 1891. p. 191.

B. brassicae Pommer, Mitt. a. d. bot. Inst. zu Graz. 1886. Heft 1 und Koch, Bot. Ztg. 1888.

Material for study. Cultures isolated from Delaware soil. Culture marked *B. mycoides*, Bact. Lab. Johns Hopkins University, Baltimore.

6. *B. tumescens* Zopf.

B. tumescens Zopf, Spaltpilze. 1885. p. 82.

Material for study. Cultures isolated from Delaware soil. Cultures marked *B. tumescens*, Králs Laboratory.

7. *B. subtilis* Cohn (emended).

Material for study. *Bacillus* isolated from surface growth on boiled hay infusion, Chester. Cultures marked *B. subtilis*, *B. mesentericus vulgatus*, *B. mesentericus fuscus*, *B. butyricus* from Králs Laboratory. Cultures from laboratories marked *B. mesentericus fuscus*, *B. subtilis*, *B. mesentericus ruber*.

8. *B. simplex* Gottheil (l. c. p. 685).

Synonym: *B. cohaerens* Gottheil, l. c.

Material for study. Cultures marked *B. simplex* und *B. cohaerens*, Králs Laboratory.

9. *B. mesentericus* Flügge.

B. mesentericus fuscus Flügge, Die Mikroorganismen. 1886.

B. pumilus Gottheil, l. c. p. 430.

Material for study. Cultures marked *B. mesentericus fuscus* from other laboratories. Cultures marked *B. pumilus*, Králs Laboratory.

10. *B. fusiformis* Gottheil (l. c. p. 724).

Material for study. Cultures marked *B. fusiformis*, Králs Laboratory.

Nachdruck verboten.

Studien über die flüchtigen Fettsäuren im Käse nebst Beiträgen zur Biologie der Käsefermente.

Von Dr. Orla Jensen,

Vorstand der schweizerischen milchwirtschaftlichen Versuchsanstalt.

(Schluß.)

Wie Kayser¹⁾ gezeigt hat, bilden die Milchsäurefermente um so mehr flüchtige Säuren, je mehr die Kulturen der Luft ausgesetzt werden; es ist daher nicht anzunehmen, daß die Hautbildung des *Bacillus casei limburgensis*, die ja die Milchsäurefermente gegen die Luft schützt, die Essigsäureproduktion der letzteren begünstigen kann. Die durch die Hautbildung verursachte Erhöhung der Menge der flüchtigen Säuren muß somit dem *Bacillus casei limburgensis* selber zugeschrieben werden. Dieses wird durch das Verhalten letzterer Bakterie in Nährlösungen mit milchsaurem Kalk bewiesen. Während *Bacillus casei limburgensis* sich in gewöhnlicher Peptonbouillon schlecht entwickelt, wächst er üppig in mit milchsaurem Kalk versetzter Bouillon. Er zersetzt zwar auch in diesem Falle das Pepton nur wenig, bildet aber an der Oberfläche eine ähnliche Haut wie auf den soeben besprochenen Mischkulturen und greift die Milchsäure energisch an. Letztere wird hierdurch teils, wie die Tab. XXXVII zeigt, in flüchtige Säuren umgebildet, teils vollständig oxydiert, was sich daraus schließen läßt, daß die Alkalinität der Kulturen stärker zunimmt, als dem gebildeten Ammoniak entspricht. Dasselbe ist mit den Milchkulturen der Fall, was es wahrscheinlich macht, daß *Bacillus casei limburgensis* die Zitronensäure der Milch zu zersetzen vermag.

Tabelle XXXVII.

Peptonbouillon mit	Aufbewahrungstemperatur	Alter zur Zeit der Untersuchung	D. Z.	Gebildete Mengen	
				Z. N.	A. N.
Milchsaurem Kalk	20° C.	1 Monat	8	1,21	0,43
Milchsaurem Kalk	35° C.	3 Monate	14	2,44	0,98

Bacillus casei limburgensis ist also, obwohl er nicht Milchzucker anzugreifen vermag, ein spezifisches Ferment des milchsauren Kalkes und erinnert in dieser Beziehung sehr an die Essigsäurefermente, die gewöhnlich auch nicht Zucker vergären können, wohl aber den daraus gebildeten Alkohol. Auch auf die morphologischen und kulturellen Eigenschaften erstreckt sich diese Ähnlichkeit weiter und ganz besonders darauf, daß *Bacillus casei limburgensis* von flüchtigen Säuren hauptsächlich Essigsäure bildet. Dieser *Bacillus* ist gleichwohl kein echtes Essigsäureferment, weil er nicht Alkohol zu oxydieren vermag. Neben der Essigsäure

1) l. c.

bildet er eine Spur Ameisensäure und bei 35° C auch eine kleine Menge Propionsäure. Butter- und Valeriansäure scheint *Bacillus casei limburgensis* dagegen aus milchsaurem Kalk nicht erzeugen zu können.

Da Limburgerkäse so reich an Fettsäuren und Ammoniak, dagegen arm an Aminosäuren ist, liegt der Gedanke nahe, daß letztere vielleicht in erstere umgewandelt werden. Um die Möglichkeit zu prüfen, ob *Bacillus casei limburgensis* zu solchen Spaltungen fähig sei, habe ich ihn in Nährsalzlösungen, die 1 Proz. der bei der Eiweißzersetzung gewöhnlich in reichlichster Menge auftretenden Aminosäure, des Leucins, enthielten, eingimpft. Wenn das Leucin im Limburgerkäse in ähnlicher Weise wie beim Schmelzen mit Kalilauge zerfällt, nämlich unter Bildung von Valeriansäure, CO₂, H und NH₃, so wäre die Entstehungsweise der Valeriansäure aufgeklärt. *Bacillus casei limburgensis* entwickelt sich zwar (sogar unter Hautbildung) in Nährsalzlösungen mit Leucin als einziger Stickstoffquelle, bildet jedoch darin nur eine Spur Ammoniak und flüchtiger Säuren.

Da es also in keiner Weise gelungen ist, mittels des *Bacillus casei limburgensis* Valerian- und Propionsäure in solcher Menge zu erzeugen, wie sie gewöhnlich im Limburgerkäse vorkommen, ist Grund vorhanden, zu untersuchen, ob wir mit dem schon eingangs erwähnten *Paraplectum foetidum* bessere Resultate erzielen können. Weigmann behauptet ja, daß diese Bakterie regelmäßig im Limburgerkäse vorkommt, während v. Freudenreich sie, wie Buttersäurebakterien überhaupt, ebenso selten wie in anderen Käsesorten angetroffen hat. Nach letzterem Forscher findet man im Inneren eines Limburgerkäses eigentlich nur Milchsäurefermente. Als echtes Buttersäureferment entwickelt *Paraplectum foetidum* sich nur kümmerlich ohne Zucker oder milchsaure Salze. In Milch oder in Peptonbouillon mit milchsaurem Kalk wächst es dagegen schnell unter anaëroben Bedingungen bei 35° C und ruft eine lebhafte, von Schwefelwasserstoffentwicklung begleitete Buttersäuregärung hervor. Der Gestank der gärenden Kulturen ist furchtbar und erinnert an Limburgerkäse. Neben Schwefelwasserstoff riecht man noch deutlich Trimethylamin. Indol läßt sich in den Kulturen nicht nachweisen. Die nachstehende Tabelle zeigt die von *Paraplectum foetidum* hervorgerufene Spaltung des Kaseins:

Tabelle XXXVIII.

Milch- nummer	Aufbewah- rungs- temperatur Alter zur Zeit der Unter- suchung	Gefundene Mengen			Gebildete Mengen				
		L. N.	Z. N.	A. N.	L. N.	Z. N.	A. N.	Z. N. in % des L. N.	A. N. in % des L. N.
2 ohne Kreide	35° C 3 Mo- nate	87,36	34,94	5,97	74,49	29,42	5,10	39,49	6,48

Wie man sieht, löst und zersetzt *Paraplectum foetidum* das Kasein sehr stark, es bildet jedoch nicht viel mehr Ammoniak

als *Micrococcus casei liquefaciens*. Tabelle XXXIX zeigt die Menge der von *Paraplectrum foetidum* in Milch und in mit milchsaurem Kalk versetzter Peptonbouillon gebildeten flüchtigen Säuren.

Tabelle XXXIX.

	Aufbewah- rungs- temperatur	Alter zur Zeit der Unter- suchung	D. Z.	Valerian- säure	Buttersäure	Essigsäure	Ameisen- säure
Peptonbouillon mit milch- saurem Kalk	35° C	1 Monat	29,0	0,1	11,6	17,0	0,3
Milch No. 2 ohne Kreide	35° C	3 Monate	36,0	9,0	24,0	0,0	3,0

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß *Paraplectrum foetidum* in Peptonbouillon mit milchsaurem Kalk hauptsächlich Buttersäure und Essigsäure, in Milch dagegen vornehmlich Buttersäure und Valeriansäure bildet. Neben flüchtigen Säuren entsteht in der Milch auch eine nicht flüchtige Säure (wahrscheinlich Milchsäure), denn ihre Acidität (der Säuregrad der Milchkultur war 24 ccm $\frac{n}{4}$

= 60 ccm $\frac{n}{10}$) hatte stärker zugenommen, als von den flüchtigen Säuren herrühren konnte. Die Tatsache, daß *Paraplectrum foetidum* in Milch merkbare Mengen Valeriansäure bildet, spricht für die Beteiligung dieser Bakterie an der Reifung des Limburgerkäses. Daß sie, besonders wenn sie, wie im Käse, nur milchsauren Kalk als Kohlenstoffquelle hat, mehr Buttersäure als Valeriansäure bildet, spricht dagegen. Auch läßt sich die Tatsache, daß *Paraplectrum foetidum* sich bei Temperaturen unter 20° C, also auch bei der günstigsten Reifungstemperatur des Limburgerkäses (10–15° C), fast nicht entwickelt, keinen Gestank und nur eine Spur flüchtiger Säuren bildet, schlecht mit den Eigenschaften eines Reifungserregers des Limburgerkäses vereinigen.

Versuche, die ich im Verein mit Dr. v. Freudenreich vorgenommen habe, ergaben, daß *Paraplectrum foetidum* keine Reifung im Limburgerkäse hervorruft, und daß *Oidium lactis* sich an der Oberfläche solcher Käse gar nicht entwickelt, wenn man auch das Schmieren einige Zeit unterläßt. Um ein üppiges Wachstum der Schimmelpilze auf Käse zu ermöglichen, ist ein vorhergehendes Trocknen der Oberfläche, wie es bei den französischen Weichkäsen geschieht, notwendig.

Glarner Schabzleger.

Während alle vorhergehenden Käsesorten Labkäse waren, ist Glarner Schabzieger ein Quargkäse (ein Sauermilchkäse), d. h. ein Käse, für dessen Herstellung der Käsestoff nicht mittels Labs, sondern mittels Milchsäure zum Ausscheiden gebracht wird. Die ursprünglichen Proteinstoffe dieser Käse sind somit nicht Para-

kasein, sondern Kasein mit mehr oder weniger Albumin (Zieger), je nachdem die Ausscheidung bei höherer oder niedriger Temperatur stattgefunden hat. Beim Glarner Schabzieger, dem bekanntesten aller Quargkäse, geschieht die Ausscheidung mittels saurer Molken bei Kochtemperatur. Bei diesem Prozeß müssen alle vegetativen Bakterien vernichtet werden, der Quarg kann somit nur wenige Milchsäurefermente enthalten (nur solche, welche durch spätere Verunreinigung darin gelangt sind), weshalb sich darin Heubacillen (*Tyrothrix*arten) und Buttersäurefermente, deren Sporen durch das Erwärmen nicht getötet werden, von ihren gefährlichsten Konkurrenten befreit, ungehemmt entwickeln können. Aus diesen verschiedenen Gründen darf man annehmen, obwohl die Bakterienflora des Schabziewers noch gar nicht studiert ist, daß der Reifungsvorgang ganz anders als bei den Labkäsen verlaufen muß. Demgemäß haben Benecke und Schulze¹⁾ im Schabzieger kein Kaseoglutin, dagegen viel Pepton nachweisen können, und demgemäß findet in dieser Käsesorte, wie v. Klecki²⁾ es bezüglich sämtlicher Quargkäse annimmt, unzweifelhaft eine Buttersäuregärung statt.

Da der Schabzieger erst nach der Gärung geformt wird, kann zwischen seinen äußeren und inneren Teilen kein wesentlicher Unterschied sein, ich habe daher auch für die Analyse die ganze Masse zusammengerieben. Da ferner dieser Käse fabrikmäßig unter Zusammenmischung von Zieger verschiedener Herkunft zubereitet wird, so müssen Schabziegerkäse von einer Bezugsquelle so ziemlich die gleiche Zusammensetzung haben, weshalb ich nur eine Probe untersuchte.

Schabzieger wird aus abgerahmter Milch bereitet, das darin vorhandene Fett erleidet deshalb in Uebereinstimmung mit unseren früheren Befunden eine starke Spaltung. In den untersuchten Käsen war der Fettgehalt 5,21 Proz., und im Fette war die (reduzierte) Säurezahl der nicht flüchtigen Fettsäuren 320, weshalb die in 100 g Käse vorkommende, von der Fettspaltung herrührende Capron- und Buttersäure nach meiner Formel $10,5$ bzw. $21 \frac{n}{10}$ ccm Lauge entsprechen. Da die höchstmögliche Säurezahl der nicht flüchtigen Fettsäuren eines Käsefettes (eines Milchfettes oder Butterfettes) nach meinen früher erwähnten Berechnungen 340 beträgt, so ist im vorliegenden Schabzieger das Fett fast vollständig hydrolytisch gespalten, und wie dieser Vorgang auch verlaufen ist, so kann aus dem Käsefette nicht viel mehr Buttersäure als berechnet entstehen. Nach den untenstehenden Analysen, die sich auf die von 100 g Käse herrührenden flüchtigen Säuren beziehen, finden wir indessen über die 3-fache Menge Buttersäure, womit der Beweis dafür erbracht ist, daß im Schabzieger eine Buttersäuregärung stattfindet. Die Destillationszahl des untersuchten Schabziewers war 258, also ebenso hoch wie im Limburgerkäse No. 7.

1) l. c.

2) l. c.

In der Tabelle XL finden sich die Ergebnisse der Analyse der Silbersalze. Da die Lösung der Barytsalze vor der Fällung 50 ccm ausmachte und für die Ausfällung 26 ccm normale Silbernitratlösung verwendet wurden, so wäre das theoretische Volumen Barytnitratlösung nach der Fällung 76 ccm (allerdings unter der nicht ganz richtigen Annahme, daß die getrockneten Silbersalze kein Volumen einnehmen). Die Fraktion VIII schied sich erst nach längerem Stehen aus.

Tabelle XL.

Nummer der Fraktion	Verwendete Anzahl Centimeter normal Silbernitratlösung	Milligramm Silbersalz	Proz. Silber in den Silbersalzen	Der Silbergehalt entspricht folgenden Gewichtsverhältnissen	Aus den Gewichtsverhältnissen lassen sich folgende Anzahl Milligramm der einzelnen Silbersalze berechnen			
					Capronsaures Silber	Buttersaures Silber	Propionsaures Silber	Essigsaures Silber
I	2	320,3	52,4	Cs Ag : Bs Ag : Ps Ag 4 : 3 : 1	160,1	120,1	40,1	
II	3	537,2	51,1	Bs Ag : Ps Ag 1,5 : 1		322,3	214,9	
III	3	517,6	57,5	Bs Ag : Ps Ag 1 : 1		258,8	258,8	
IV	3	487,2	57,7	Bs Ag : Ps Ag 1 : 1,7		180,4	306,8	
V	3	304,0	58,0	Bs Ag : Ps Ag 1 : 2,1		98,0	206,0	
VI + VII	4 + 4	279,7	59,7	reines propionsaures Silber			279,7	
VIII	4	107,0	63,1	Ps Ag : Es Ag 1 : 2,1			34,2	72,0
Die 75 ccm Wasser können b. 20°C in Lösung halten:					58,5	384,0	627,0	777,7
Summa					218,6	1363,6	1967,5	849,7
Das Gewicht der einzelnen Silbersalze entspricht								
ccm $\frac{n}{10}$ Säure:					10,0	70,0	109,0	51,0

Da, wie diese Tabelle zeigt, die Fraktionen VI und VII den Silbergehalt des propionsauren Silbers besitzen und der Silbergehalt der meisten anderen Fraktionen zwischen demselben und demjenigen des buttersauren Silbers liegt, so ist anzunehmen, daß die Hauptmenge der flüchtigen Säuren im Schabzieger aus Propionsäure besteht und daß demnächst Buttersäure vorherrschend ist. Von diesem Gesichtspunkte aus sind die Fraktionen auch gedeutet worden, und daß diese Lösung die richtige ist, geht daraus hervor, daß die bestmögliche Deutung der nach dem Duclauxschen Verfahren gewonnenen Verhältniszahlen zu einem ganz übereinstimmenden Resultate führt. Nachfolgend die bei diesem Verfahren erhaltenen Zahlen:

Digitized by Google

Wegen des geringen Unterschiedes zwischen den Verhältniszahlen der I. und II. Fraktion sind dieselben zusammen gedeutet worden. Da verschiedene Forscher (in der letzten Zeit Grassberger und Schattenfroh)¹⁾ den Beweis dafür geliefert haben, daß Buttersäurefermente, die ja ohne Zweifel bei der Reifung des Schabziewers eine Rolle spielen, Propionsäure erzeugen können, so ist das Vorkommen dieser Säure im Schabziewer leicht erklärlich. Vielleicht bilden die Buttersäurefermente bei den niedrigen Temperaturen, die bei der Käsureifung in Betracht kommen, verhältnismäßig mehr Propionsäure als bei höheren Temperaturen.

Beim Glarner Schabziewer werden der spezifische Geruch und Geschmack nicht nur von den Gärungsprodukten, sondern in hohem Maße von dem nach der Gärung auf der Ziegermühle zugesetzten Ziegerklee, *Melilotus coerulea*, verursacht. Bei dieser Pflanze entwickelt sich das Aroma hauptsächlich, wie beim Gras der Heu- duft, erst beim Trocknen oder bei den damit verbundenen Gärungs- erscheinungen. Für 100 kg Zieger verwendet man gewöhnlich 2–3 kg Kleepulver. Von demselben rührt bekanntlich auch die grüne Farbe des Schabziewers her.

Resumé und Schlußbemerkungen.

Als Resumé dieser Arbeit dient am besten die letzte Tabelle, in welcher die einzelnen flüchtigen Säuren der verschiedenen untersuchten Käsesorten in Promille der Käse (1 g Säure pro 1 kg Käse) zusammengestellt sind. Extreme Fälle haben in der Tabelle keine Aufnahme gefunden, sämtliche Analysen beziehen sich auf reife Käse mittlerer Zusammensetzung (der Magerkäse war jedoch als etwas überreif zu bezeichnen und der Brieckäse war nicht durchgereift, beide Käse befanden sich aber in dem für den Konsum beliebtesten Zustand). Da nach unseren Untersuchungen jedenfalls die Hauptmenge der in den Labkäsens vorkommenden Capron- und Buttersäure von der Fettspaltung herrührt, ist bei diesen Käsen in der Tabelle die ganze Menge dieser Säuren unter den Fettspaltungsprodukten aufgeführt worden. Ferner habe ich in die Tabelle die Ammoniakmenge der verschiedenen Käsesorten mit aufgenommen, weil das Ammoniak, wie eingangs erwähnt, bei vielen Käsen eine der wichtigsten Komponenten des Aromas ist.

(Siehe Tabelle XLI p. 760.)

Vorstehende Tabelle zeigt, daß Essigsäure in sämtlichen Käsesorten vorkommt; ebenfalls läßt sich darin immer Ameisensäure, wenn auch oft nur in unwägbaren Spuren, nachweisen. Da diese zwei Säuren von allen untersuchten Käsefermenten gebildet werden, ist ihre Entstehung im Käse leicht erklärlich. In den Käsesorten, bei deren Reifung Schimmelpilze die Hauptrolle spielen, findet man von flüchtigen Fettsäuren neben den von der Fettspaltung herrührenden nur kleine Mengen Essigsäure und Ameisensäure. Die Schimmelpilze rufen nämlich keine Fettsäuregärung hervor, im Gegenteil, sie sind Säurezerstörer. In allen anderen Käsesorten

1) l. c.

Tabelle XLI.

Käsesorte		In 1000 g Käse ist vorhanden										
		In cem n. ausgedrückt		In Gramm ausgedrückt								
		Totale Menge flüchtiger Säuren	Totale Ammoniakmenge	Durch die Fettspaltung entstanden		Durch die Spaltungen des Kaseins (bzw. d. Parakaseins) und des Milchzuckers (bzw. der Milchsäure) entstanden						
				Capron-säure	Butter-säure	Valerian-säure	Butter-säure	Propion-säure	Essig-säure	Ameisen-säure	Totale Menge flüchtiger Säuren	Totale Ammoniakmenge
Emmentaler-käse	Inneres	88,0	75,0	0,116	0,176	—	—	4,218	1,680	—	6,190	1,275
	Aeußeres	75,0	55,0	0,928	1,232	—	—	2,812	0,900	—	5,872	0,935
Edamerkäse	Inneres	15,6	15,0	—	—	—	—	0,224	0,678	0,057	0,959	0,255
Schweizerischer Magerkäse	Inneres	81,6	267,5	0,986	1,496	—	—	2,405	1,200	0,138	6,225	4,548
	Aeußeres	100,0	207,5	1,682	2,552	—	—	2,775	1,080	0,046	8,135	3,528
Roquefortkäse	Ganze Masse	38,0	115,0	0,928	1,672	—	—	—	0,540	0,092	3,232	1,955
Camembertkäse	Inneres	6,6	175,0	0,081	0,246	—	—	—	0,069	0,082	0,478	2,975
Briekäse	Inneres	11,3	95,0	0,139	0,572	—	—	—	0,204	0,008	0,923	1,615
	Aeußeres	8,7	217,5	0,128	0,466	—	—	—	0,120	0,013	0,727	3,698
Romadourkäse	Inneres	111,0	200,5	0,058	0,440	1,581	—	5,180	1,140	0,046	8,445	3,409
	Aeußeres	104,5	220,0	0,232	1,003	1,550	—	4,529	0,822	0,046	8,182	3,740
Glarner Schabzieger	Ganze Masse	258,2	215,0	1,195	1,848	—	4,452	9,102	3,198	—	19,795	3,655

kommt Propionsäure und oft in so beträchtlichen Mengen vor, daß Propionsäure als spezifische Käsesäure bezeichnet werden muß. Wie eigentlich so viel Propionsäure im Käse gebildet wird, ist noch nicht völlig aufgeklärt. Zwar entsteht in den meisten Käsefermentkulturen Propionsäure, aber immer in viel geringerer Menge als Essigsäure. Im Abschnitte über Emmentalerkäse habe ich indessen darauf aufmerksam gemacht, daß die verschiedene chemische Zusammensetzung von Milch und Käse und der Umstand, daß die Milchkulturen der Luft ausgesetzt waren, während im Innern eines Käses streng anaerobe Bedingungen herrschen, das Verhältnis zwischen Essigsäure und Propionsäure verrücken müssen. Daß es sich wirklich so verhält, davon habe ich mich durch Analyse von kleinen, aus aseptisch gemolkener Milch nach Emmentalerart zubereiteten Käsen überzeugen können. Diese Käse, welche 6 Monate alt untersucht wurden, enthielten, wenn keine Bakterien eingepflanzt waren, auch fast keine flüchtigen Säuren (D. Z. = 1); diejenigen dagegen, denen bei der Herstellung Kulturen von Milchsäurefermenten zugesetzt worden waren, hatten Destillationszahlen von 10–25 und das Verhältnis Es:Ps variierte darin von 2:1 bis 1:1,5. Das letztere war also ganz wie im Emmentalerkäse. Da

die absolute Menge der flüchtigen Säuren jedoch gewöhnlich sehr klein war (durchschnittlich nicht größer als im Edamerkäse), so ist es keineswegs ausgeschlossen, daß in Käsen, die viel flüchtige Säuren enthalten, noch unbekannte Fermente tätig sind, welche in Nährmedien, die milchsauren Kalk enthalten, eine typische Propion-Essigsäuregärung hervorrufen. Hierfür sprechen die Arbeiten von Fitz¹⁾, nach welchen man annehmen muß, daß Fermente mit obiger Eigenschaft wirklich in der Natur vorkommen, und daß dieselben sich bei niedriger Temperatur (Zimmertemperatur) besser entwickeln als die Buttersäurefermente.

Nur in Backsteinkäsen, nach Limburgerart bereitet (wie z. B. im Romadourkäse), wurde mit Sicherheit Valeriansäure nachgewiesen. Damit will ich jedoch nicht behaupten, daß in den anderen Käsesorten keine Spur dieser Säure anzutreffen sei, im Gegenteil, da einige in allen Käsen sich entwickelnden Bakterien (wie z. B. *Micrococcus casei liquefaciens*) Valeriansäure bilden, kommt diese Säure wahrscheinlich in allen Käsesorten vor, nur gewöhnlich in so geringen Mengen, daß die angewandten Methoden nicht ausreichen, um sie von den nächsten Homologen zu trennen. In einem Magerkäse wurden, wie erwähnt, größere Mengen einer höheren Säure gefunden, die wahrscheinlich Valeriansäure war. Da Fitz die Existenz spezifischer Propion-Valeriansäurefermente nachgewiesen hat, liegt die Möglichkeit vor, daß solche im Limburgerkäse und vielleicht auch ausnahmsweise in anderen Käsen (z. B. in Magerkäsen) tätig sind. Das Auftreten verschiedener Säurefermente (Essigsäurebildner, Propion-Essigsäurebildner und Propion-Valeriansäurebildner) nebeneinander im Käse, von welchen bald die einen und bald die anderen die Oberhand hätten, würde in einfachster Weise das wechselnde Verhältnis zwischen den einzelnen flüchtigen Säuren erklären.

Diese Untersuchungen haben gezeigt, daß, in Uebereinstimmung mit den bakteriologischen Befunden, in Labkäsen gewöhnlich keine oder jedenfalls keine nennenswerte Buttersäuregärung stattfindet. Der wahrscheinlichste Grund dieser Tatsache dürfte der sein, daß die Buttersäurefermente bei den niedrigen Käsereifungstemperaturen von den Milchsäurefermenten überwuchert werden, denn in Käsen, wie Schabzieger, in welchen die Milchsäurefermente abgetötet sind, entstehen durch Gärung beträchtliche Mengen (4,5 %) Buttersäure.

Da der Geruch der flüchtigen Fettsäuren um so charakteristischer ist, je höheres Molekulargewicht sie haben, so üben bei den meisten Käsen die aus dem Käsefette abgespaltenen flüchtigen Säuren einen weit größeren Einfluß auf das Aroma aus als die aus den anderen Käsebestandteilen entstandenen Fettsäuren. Die allergrößte Bedeutung für die Bildung des typischen Käsegeruches, womit im täglichen Gespräch eigentlich mehr der Geruch der

1) l. c.

Käserinde als der Geruch der inneren Masse verstanden wird, kommt der Caprin-, Capryl- und Capronsäure zu, denn man kann sich leicht überzeugen, daß Mischungen dieser Säuren mit ganz verdünntem Ammoniakwasser nach Käse riechen. In dieser Arbeit habe ich freilich die Menge der Caprin- und Caprylsäure nicht bestimmt, da man jedoch annehmen darf, daß sie in der Regel in einem bestimmten Verhältnis zu der Capronsäure stehen, läßt sich aus der Tabelle XLI gleichwohl schließen, welchem Käse viel oder wenig dieser Säuren enthalten. Nächst den drei genannten Säuren sind natürlicherweise der Valeriansäure und der Buttersäure die größte Bedeutung für das Käsearoma beizumessen, die Propion-, Essig- und Ameisensäure können dagegen, wenn sie nicht (so wie im Schabzieger) in überaus großen Mengen vorhanden sind, hierfür keine große Rolle spielen, besonders weil sie wegen ihres großen Verbindungsvermögens selten in freiem Zustande, sondern gewöhnlich in Form neutraler Salze vorkommen werden.

Aus dieser Erörterung geht hervor, daß bei den Käsesorten, in welchen keine Valeriansäure- oder Buttersäuregärung stattfindet, also bei den allermeisten Labkäsen, die Schärfe mit dem Umfang der darin verlaufenden Fettspaltung proportional sein muß. Von der Schärfe ist selbstverständlich der Salzgeschmack gut zu unterscheiden. Da in den Hartkäsen die Fettspaltung sehr langsam verläuft, versteht man jetzt, warum man diese Käse lange lagern lassen muß, wenn man ein schmackhaftes Produkt erzeugen will. Da ferner die Fettspaltung von außen nach innen schreitet, ist es einleuchtend, daß die Schnelligkeit dieses Prozesses von der Form der Käse und der Durchlässigkeit der Rinde und der inneren Masse abhängig ist. So findet im Edamerkäse fast keine Fettspaltung statt, weil man ihm die möglich kleinste Oberfläche (die Kugelform) gibt, welche dazu ausgetrocknet und eingeölt wird. Emmentalerkäse, in welchem es wegen der Größe des Laibes und der dicken Konsistenz der Masse schwierig ist, die für das Aroma nötige Fettspaltung hervorzurufen, gibt man dagegen eine flache Form, die dann gleichzeitig das Durchsalzen erleichtert. Käse, die in ihrem Inneren Schimmelpilze beherbergen, und bei welchen deshalb der von außen hineinschreitende Fettspaltungsprozeß nur eine untergeordnete Rolle im Verhältnis zu dem von den Schimmelpilzen verursachten spielt, gibt man eine für die Versendung und den Zusammenhang der etwas bröckeligen Käsemasse bequeme Cylinderform annähernd halb so hoch als breit. Hierdurch vermeidet man auch leichter, daß die Schimmelpilze bis zur Oberfläche hinauswachsen, was die Käse verderben würde. Da bei Weichkäsen der ganze Reifungsvorgang von außen nach innen schreitet, ist man genötigt, diesen Käsen eine große Oberfläche zu geben, denn sonst würden die äußeren Schichten stark überreif werden, während die innere Masse noch ganz unverändert wäre. Mit der großen Oberfläche der Weichkäse sind indessen auch gute Bedingungen einer schnell verlaufenden Fettspaltung geboten, und nur der Umstand, daß die Weichkäse viel jünger als die Hartkäse verzehrt werden, macht, daß die Fettspaltung in den konsumfähigen

Weichkäsen öfters nicht weiter vorgeschritten ist als in den konsumfähigen Hartkäsen. Es ist auch daran zu erinnern, daß, wenn in obiger Tabelle die Menge der flüchtigen Säuren und des Ammoniaks auf die Trockensubstanz statt auf die Käsemasse berechnet wären, diese Mengen bei den wasserreichen Weichkäsen verhältnismäßig höher erscheinen würden. Während viel Wasser einerseits die Gärungsprozesse im Käse begünstigt, verdünnt es andererseits die Gärungsprodukte, weshalb der Unterschied zwischen den Mengen der letzteren bei den wasserarmen und wasserreichen Käsen nicht so groß ausfällt als man erwarten könnte.

Käse, in welchen eine starke Fettspaltung stattgefunden hat, enthalten auch in den meisten Fällen viel Ammoniak, weil die Fettspaltung und die Ammoniakbildung beide vorzugsweise durch die Tätigkeit aërober Mikroorganismen zu stande kommen. Käse, die so viel Ammoniak im Verhältnis zu Säuren enthielten, daß sie mit Phenolphthaleïn alkalisch reagierten, habe ich nie angetroffen, alkalisch mit Lackmus reagieren die reifen Weichkäse dagegen öfters, besonders in den äußeren Schichten.

Als wichtige Komponenten des Käsearomas, die nur für einzelne Käsesorten charakteristisch sind, sind für Emmentalerkäse die süßlichen Aminosäuren, für Roquefortkäse die sehr scharfschmeckenden Buttersäureester, für Limburgerkäse gewisse Fäulnisprodukte und für Schabzieger die riechenden Bestandteile des Ziegerklees zu erwähnen.

Anmerkung. Diese Arbeit wurde im bakteriologischen Laboratorium der schweizerischen landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsanstalten (Vorstand Dr. v. Freudenreich) angefangen und in der schweizerischen milchwirtschaftlichen Versuchsanstalt zu Ende geführt. Februar 1904.

Nach der Einreichung des Manuskriptes der vorliegenden Arbeit habe ich Gelegenheit gehabt, eine kleine Versuchsreihe über den Einfluß des mit dem Labe zugesetzten Pepsins auf das Parakaseïn auszuführen. Das Lab wurde mittels Filtration durch eine sterile Chamberlandsche Kerze keimfrei gemacht und der sterilisierten Milch zugesetzt. Da eine Lablösung nach den Versuchen v. Freudenreichs¹⁾ bei der Filtration durch eine Chamberlandsche Kerze ungefähr $\frac{5}{6}$ ihrer Stärke verliert, so muß man, um nach der Filtration eine normale Lablösung (d. h. eine Hansensche Labtablette No. 2 in 500 ccm Wasser gelöst) zu haben, vor derselben 6 Tabletten in 50 ccm Wasser auflösen. Vom Filtrate habe ich per 20 ccm Milch 1 ccm verwendet. Die sterile Mischung gerann erst nach 20 Stunden bei 35° C. Der mit dem Labe zugesetzte L. N. war so unbedeutend, daß er nicht in Betracht kam. Das mit dem Labe zugesetzte Wasser mußte dagegen bei der Berechnung berücksichtigt werden. Die Tabelle XLII zeigt die Wirkung des Pepsins auf das Parakaseïn, teils für sich allein, teils im

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1898. p. 309.

Verein mit den zwei wichtigsten Bakterien des Limburgerkäses, *Bacterium lactis acidum* und *Bacillus casei limburgensis*. Wo möglich, wurde die Milch ohne vorhergehendes Kochen mit Essigsäure filtriert. Die aus diesem Filtrate ermittelte totale Menge löslichen Stickstoffes ist in der Tabelle mit T. L. N. bezeichnet. Für die ganze Versuchsreihe wurde die gleiche Milch (No. 6) verwendet. Diese wurde nach dem Zusatz vom Labe und Bakterien $1\frac{1}{2}$ Monate bei 35° C aufbewahrt.

Tabelle XLII.

Milch No. 6	Eingeimpfte Bakterien	Gefundene Mengen				Gebildete Mengen			
		T. L. N.	L. N.	Z. N.	A. N.	T. L. N.	L. N.	Z. N.	A. N.
Ohne Lab-zusatz desgl.	ohne Bakterien		11,90	5,31	0,86				
	<i>Bacterium lactis acidum</i>		12,91	5,31	0,75		1,01	0,00	— 0,11
	<i>Bacillus casei limburgensis</i>		12,41	4,05	1,32		0,51	— 1,26	0,46
Lab vor der Sterilisierung zugesetzt desgl.	ohne Bakterien		14,02	5,31	0,86				
	<i>Bacterium lactis acidum</i>	14,94	14,43	5,80	0,90	0,92	0,41	0,49	0,04
	<i>Bacillus casei limburgensis</i>	40,26	14,43	5,01	1,72	26,24	0,21	— 0,20	0,86
Filtr. Lab nach der Sterilisierung zugesetzt desgl.	ohne Bakterien	49,37	25,77	5,31	0,86	35,35	11,75	0,00	0,00
	<i>Bacterium lactis acidum</i>	75,19	74,58	10,63	1,22	61,17	60,56	5,32	0,36
	<i>Bacillus casei limburgensis</i>	63,54	25,82	5,06	2,53	49,52	11,80	— 0,25	1,67
desgl.	<i>Bacterium lactis acidum</i> und <i>Bacillus casei limburgensis</i>	79,75	74,18	9,62	1,01	65,73	60,16	4,31	0,15

Aus dieser Tabelle ersieht man, daß das mit dem Labe zugesetzte Pepsin schon für sich allein das Parakasein stark angreift, und daß seine Wirkung bei der Gegenwart von *Bacterium lactis acidum* bedeutend erhöht wird. Letzteres beruht selbstverständlich darauf, daß die gebildete Milchsäure die peptische Proteolyse begünstigt. Freilich enthielten die mit *Bacterium lactis acidum* geimpften Milchkolben Kreide, diese aber verhindert nicht, daß die Milch, wenn man sie nicht ununterbrochen schüttelt, sauer wird, ja bei 35° C so sauer, daß sie gerinnt. Es ist interessant, zu sehen, daß die Milchsäure nicht nur den Umfang der peptischen Proteolyse, sondern auch ihre Tiefe steigert. In den Milchkolben mit filtriertem Lab allein bestanden nämlich die lös-

lichen Eiweißkörper größtenteils aus mit Essigsäure leicht fällbaren primären Albumosen, während sie in den Kolben, die auch *Bacterium lactis acidi* enthielten, weiter in sekundäre Albumosen und Peptone umgebildet worden waren (wenn in diesen Kolben noch primäre Albumosen vorkamen, waren sie bereits von der Milchsäure ausgefällt worden, daher T. L. N. = L. N.). Trotzdem *Bacillus casei limburgensis* eine alkalische Reaktion (alkalisch mit Lackmus, sauer mit Phenolphthalein) hervorruft, verhindert er doch nicht die Wirkung des Pepsins; da er selber primäre Albumosen bildet, ist die Menge dieser Körper in den Milchkolben mit Lab und dieser Bakterie größer als in den Kolben mit Lab allein. Obwohl wir für diese Versuche 10mal soviel Lab verwendet haben, als man beim Verkäsen gewöhnlich braucht, bestärken sie gleichwohl die bereits durch viele in Nordamerika in der Praxis ausgeführte Versuche festgestellte Tatsache, daß das mit dem Labe zugesetzte Pepsin eine große Rolle bei der Käsereifung spielt.

Stellen wir jetzt die Wirkungsweise der verschiedenen in dieser Arbeit untersuchten Käsefermente (organisierten und unorganisierten) auf das Kasein oder Parakasein zusammen, so kommen wir zu folgendem Hauptresultat:

„*Bacillus casei limburgensis* bildet, wenn er allein vorkommt, nur primäre Albumosen. Pepsin bildet in der Gegenwart von Milchsäurefermenten (die ja immer im Labkäse vorhanden sind) auch sekundäre Albumosen und Peptone. *Micrococcus casei liquefaciens*, *Paraplectrum foetidum* und *Bacillus nobilis* bilden hauptsächlich Peptone, Aminosäuren und Ammoniak, und die Tiefe der Eiweißzersetzung nimmt in der gleichen Reihenfolge zu, in der diese drei Bakterien aufgeführt sind. Im Verein mit *Micrococcus casei liquefaciens* verhält sich *Bacillus casei limburgensis* beinahe wie *Bacillus nobilis*. *Bacillus casei* α und *Bacillus casei* ϵ bilden scheinbar fast ausschließlich Aminosäuren.“

Nachdruck verboten.

Ein neuer Apparat zur Ansammlung von Gärungsgasen.

[Aus dem Hygienischen Institut der technischen Hochschule
zu Dresden.]

Von Dipl.-Ing. **Erich Hofstädter**, Dresden.

Mit 2 Figuren im Text.

Das große Interesse, welches die Gärungserscheinungen für den Bakteriologen und Chemiker bieten, hat in den letzten Jahren eine große Anzahl von Arbeiten gezeitigt. Analysen der Gase, die bei den verschiedenen Gärungsprozessen entstehen, sind schon mehr-

fach ausgeführt worden. Besonderes Interesse erregte die Zusammensetzung der bei der Vergärung von Kohlehydraten durch Bakterien und der Salpetervergärung entstehenden gasförmigen Produkte.

Zur Ansammlung der Gase bediente man sich meist der kleinen Einhornschen Gärkölbchen und erhielt auf diese Weise nur äußerst geringe Mengen Gas. Dies erschwerte die Ausführung der Analyse sehr und beeinträchtigte die Genauigkeit außerordentlich.

Die Konstruktion der in der Literatur beschriebenen Apparate, mit Hilfe derer man größere Mengen Gas zu erhalten suchte, ist keineswegs vollkommen und einwandsfrei zu nennen. Sie genügen nicht den Ansprüchen, die man an einen leicht zu handhabenden Apparat stellt, und sind, was die Hauptsache ist, nicht als gasdicht zu bezeichnen.

Es lag deshalb das Bedürfnis nach einem in jeder Beziehung dem Zwecke entsprechenden Apparat vor. Aus diesem Grunde richtete ich mein Augenmerk darauf, einen möglichst zweckentsprechenden Apparat für die Ansammlung der bei Gärungsprozessen entstehenden Gase zu konstruieren, und ich glaube, diese Aufgabe in genügender Weise gelöst zu haben.

Da es in der Hauptsache darauf ankommt, die Gefahr der Diffusion des Wasserstoffes auszuschließen, die ja bei der Temperatur des Brütofens noch stärker ist als bei Zimmertemperatur, sah ich gänzlich von der sonst üblichen Benutzung des Gummis ab und stellte sämtliche Teile meines Apparates aus Glas her. Der zweiten wichtigen Forderung, eine möglichst große Menge Gas zu erhalten, kam ich dadurch nach, daß ich meinem Apparate eine entsprechende Größe gab. Ich nahm dabei besondere Rücksicht auf eine wenig Platz beanspruchende Form, um mehrere Apparate zu gleicher Zeit in einem Brütschrank von gewöhnlicher Größe bequem unterbringen zu können.

Der Apparat faßt ungefähr 350 ccm Flüssigkeit und man kann mit demselben, wie sich gelegentlich einer Untersuchung über Salpetervergärung gezeigt hat, eine Gasmenge von 100—200 ccm erhalten, was zur Ausführung genauer Analysen vollkommen ausreicht.

Im Prinzip besteht der Apparat aus einem Gärkölbchen von größeren Dimensionen, dessen längerer, geschlossener Schenkel oben durch einen mit Quecksilberdichtung versehenen Hahn von besonderer Konstruktion abgeschlossen ist. Der Hahn besitzt, wie aus Fig. 1 ersichtlich ist, zwei Bohrungen, welche derart angeordnet sind, daß bei der einen Stellung a mit b , bei der anderen a mit c verbunden ist. Der Hahn ist durch einen Schliff mit dem Apparat verbunden, wodurch ein leichtes Reinigen erzielt wird, und außerdem die Gefahr des Zerspringens beim Sterilisieren im Dampftopf ausgeschlossen ist.

Hat man den Apparat nach dem Sterilisieren an dem eisernen Stativ befestigt, so füllt man die offene Kugel vollkommen mit Nährlösung und verschließt wieder mit einem vorher sterilisierten

Wattebausch. Verbindet man nun die Kapillare *a* mit einem Gummischlauch und bringt den Hahn in die Stellung, durch welche *a* mit *c* verbunden wird, so kann man durch Saugen den geschlossenen Schenkel mit Nährlösung füllen, und zwar bis in die Kapillare *a* hinein, so daß sämtliche Luft verdrängt wird. Nach diesem bringt man den Hahn in die andere Stellung, füllt den ihn umgebenden Behälter bis an den Hahngriff mit Quecksilber und saugt letzteres noch bis in die Kapillare *a*, wodurch ein vollkommen sicherer Abschluß des in dem Apparat sich ansammelnden Gases

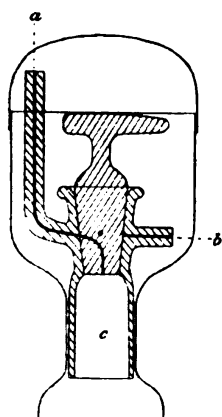


Fig. 1.

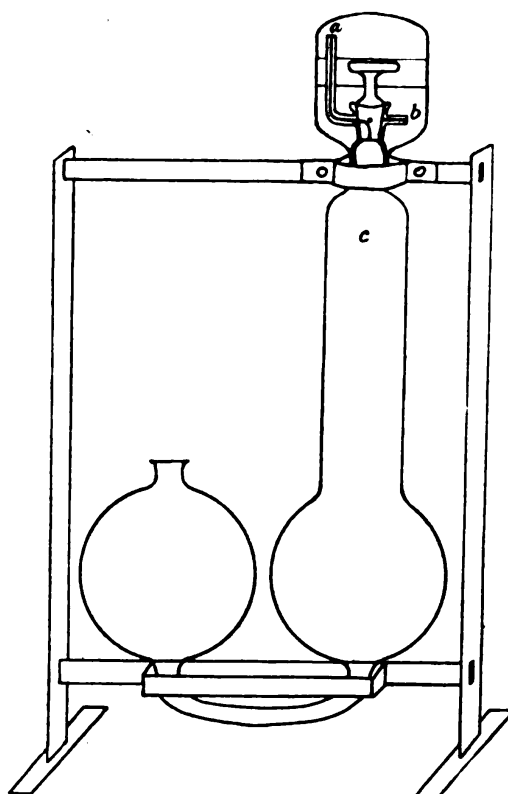


Fig. 2.

von der Luft erreicht wird. In dem Maße, wie die Gärung fortschreitet, wird die Flüssigkeit in den offenen Schenkel verdrängt. Durch Verbinden der Kapillare *a* mit einer Bürette kann man das Gas in der üblichen Weise bequem entnehmen.

Um das Verdampfen des Quecksilbers im Brutschrank zu verhindern, ist der Quecksilbernapf mit einer eingeschliffenen Glas-
kappe versehen.

Der Hauptvorteil des Apparates besteht darin, daß er, da er, vollkommen aus Glas bestehend, absolut gasdicht und leicht sterilisierbar ist.

Der im Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. p. 760¹⁾ beschrie-

1) Ampola, H. und Garino, E., Ueber die Denitrifikation.

bene Apparat ist oben an Stelle des eingeschliffenen Hahnes mit einem Gummistopfen versehen, durch den ein kurzes Glasrohr geführt ist, über welches ein durch einen Quetschhahn verschließbares Stück Gummischlauch geschoben ist. Bei der geringen Haltbarkeit des Gummis kann leicht eine Undichtigkeit vorkommen, und es ist aus diesem Grunde die Anwendung desselben auf jeden Fall zu vermeiden.

Vor allem aber ist es, wie schon oben erwähnt, die Eigenschaft des Wasserstoffes durch Gummi hindurchzudiffundieren, welche die Benutzung desselben ausschließt. Selbst durch ganz tadellose Gummistopfen diffundiert der Wasserstoff mit Leichtigkeit in verhältnißmäßig kurzer Zeit. Es fällt das besonders deshalb ins Gewicht, weil bei jeder Gärung durch Bakterien Stickstoff, Kohlensäure und Wasserstoff entstehen. Mit einem Gummiteile enthaltenden Apparate sind demnach genaue Analysen derartiger Gasgemische überhaupt nicht auszuführen.

Es kommt zur Abdichtung einzig und allein das Quecksilber in Betracht, welches, wie die Erfahrung gelehrt hat, keinem Gase den Durchtritt gestattet. Dadurch, daß man bei dem von mir beschriebenen Apparat den Hahn vollkommen mit Quecksilber abdichten und sogar die Kapillare damit anfüllen kann, ist es unmöglich, daß ein Gasgemisch vollkommen oder einer seiner Bestandteile aus dem Apparat entweichen kann.

Mit dem Apparat sind von anderer Seite eine größere Anzahl von Untersuchungen im hiesigen Institut ausgeführt worden, die in der nächsten Zeit veröffentlicht werden, und er hat sich dabei als außerordentlich brauchbar erwiesen.

(Der Apparat ist von Franz Schilling, Gehlberg i. Thür., zu beziehen.)

Corrigendum.

Auf S. 726 Z. 2 von oben ließ Barthel statt Budde.

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Chester, Frederick D., A review of the *Bacillus subtilis* group of bacteria, p. 737.

Hofstädter, Erich, Ein neuer Apparat zur Ansammlung von Gärungsgasen, p. 765.

Jensen, Orla, Studien über die flüchtigen Fettsäuren im Käse nebst Beiträgen zur Biologie der Käsefermente. (Schluß), p. 753.

Corrigendum p. 768.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D.C., U.S.A., Prof.
Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr.
Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W.50, Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XIII. Band.

Jena, den 31. Dezember 1904.

No. 25.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Referate.

Stevens, F. L., Studies in the fertilization of Phycomycetes: *Sclerospora graminicola* (Sacc.) Schroet. (Botan. Gazette. Vol. XXXIV. 1902. p. 421—425. Mit 1 Taf.)

Das vielkernige Oogonium entwickelt eine anfangs kernlose Oosphäre. Auch das Antheridium ist vielkernig, in den Befruchtungsschlauch tritt nur 1 Kern ein. Nach der Verschmelzung dieses mit dem weiblichen wird erst die Oosporenwand abgeschieden. Durch diese Vorgänge ist *Sclerospora* wohl näher mit den Peronosporen verwandt als mit den Albugo-Arten. Die be-

Zweite Abt. Bd. XIII.

49

obachteten Veränderungen des Plasmas und des Kernes stimmen mit den bei anderen *Peronospora*-Arten beobachteten Erscheinungen überein. Matouschek (Reichenberg).

Stoll, O., Beiträge zur morphologischen und biologischen Charakteristik von *Penicillium*-Arten. [Inaug.-Diss.] 56 p. Mit 5 Tafeln. Würzburg 1904.

Die im hygienischen Institut zu Würzburg ausgeführte Arbeit befaßt sich mit dem Studium von 7 *Penicillium*-Arten, von denen 6 vom Verf. selbst kultiviert wurden; daß derselbe sich damit einer dankbaren Aufgabe unterzogen hat, bedarf kaum der Hervorhebung, denn tatsächlich ist die nähere Kenntnis der Gattung *Penicillium* noch eine sehr dürftige. Wir besitzen in systematischen Werken zwar eine Unzahl von Diagnosen, doch wenig mehr als ein Dutzend Arten, die als sicher betrachtet werden können. Der größere Teil der alten Beschreibungen ist völlig wertlos, weil er keine Wiedererkennung gestattet. Bei Aufstellung der Species ist da überhaupt nicht mit den bereits vorhandenen verglichen, sondern einfach beschrieben; nicht selten passen dann auch die angegebenen Merkmale auf so und so viele andere Arten.

Neben den bereits besser bekannten Arten (*P. glaucum* Lnk., *P. luteum* Zuk., *P. italicum* Wehm., *P. olivaceum* Wehm.) werden *P. brevicaula* Sacc., *P. rubrum* nov. spec. und *P. purpurogenum* nov. spec. behandelt; die zwei letzteren Namen existierten als solche allerdings bereits seit geraumer Zeit für das aus dem Králschen Laboratorium bezogene Kulturmateriale, untersucht waren die Pilze jedoch noch nicht, so daß hier zuerst die Beschreibungen gegeben werden. In dem einleitenden Abschnitt der Arbeit erörtert Verf. unter anderem die bisherige Literatur, weist auf die Verschiedenheit der bislang für die Gattung bekannten Ascusfrüchte hin und beschreibt endlich die Art seiner Kulturanstellung und Arbeitsweise. Aussehen und Verhalten der Species auf den benutzten Substraten (Zuckergelatine bzw. Agar, Kartoffeln)¹⁾ werden dann eingehend geschildert; nur einzelnes kann davon hier kurz wiedergegeben werden.

1) *P. brevicaula* Sacc. bildet zweierlei Konidien, neben den bekannten kugeligen auch mehr oder weniger birnförmige, beide nebeneinander an den gleichen Konidienträgern; sie waren übrigens stets glatt und nicht zum Teil warzig, wie Saccardo angibt. Das Wachstumsoptimum liegt bei ca. 20—23°; Gelatine wurde nur bei Abwesenheit von Zucker verflüssigt; es wird dabei freies Ammoniak abgespalten. Konidien gelblich, 6,5 μ im Durchmesser bzw. 6 \times 10 μ .

2) *P. glaucum* Lk. ist die einzige Species, welche trotz Zuckerzusatz die benutzte Gelatine verflüssigt. Die Konidiengröße maß Verf. zu 4,1 μ im Durchmesser, Brefeld hatte früher 2,5 μ angegeben. Keimung der Konidien fand auch noch bei 37° statt.

1) Empfohlen hätte sich wohl auch die Verwendung von Substraten, wie Brot, Würze, Zuckerlösung mit Mineralsalzen.

und zwar gleich gut wie bei 8°. Auf die Schnelligkeit der Gelatineverflüssigung erwies sich die Reaktion hier wie auch bei den übrigen Species von erheblichem Einfluß, nur bei Anwesenheit von Zucker bildete der Pilz einen gelben Farbstoff, welcher bei Fehlen von Kohlenhydraten nicht entstand. Bemerkenswert ist die Beobachtung, daß bei fortgesetzter Kultur auf saurem Agar nicht mehr grüne, sondern farblose Konidienrasen entstanden, welche ganz mit dem *P. candidum* Lnk. übereinstimmten, bei Abimpfung auf Kartoffeln aber wieder die normale Färbung ergaben.

3) *P. olivaceum* Wehm. Zuckerzusatz hemmte hier die Verflüssigung der benutzten Gelatine gänzlich, aber auch sonst ist dieselbe sehr träge (in Wochen); das Wachstumsoptimum lag bei ca. 23—25°, unter 10° fand keine Entwicklung statt. Ein gelber Farbstoff wurde auch hier nur bei Zuckergegenwart gebildet. Die ellipsoidischen Konidien wurden zu $8,4 \times 5,3 \mu$ im Mittel gemessen; nach vollendeter Abschnürung findet noch ein merkliches Wachstum statt. Die Wachstumsenergie der Art ist geringer als die von 1 und 2.

4) *P. italicum* Wehm. Auch hier sind die soeben abgeschnürten Konidien nur halb so groß wie die ausgereiften und zunächst rechteckig, später ellipsoidisch ($5,2 \times 3,3 \mu$), die untersuchte Art stimmt also unzweifelhaft mit der vom Ref. unter diesem Namen beschriebenen überein. Das Temperaturoptimum lag bei 25°, unter 10° fand keine Entwicklung statt. Das Gelatineverflüssigungsvermögen war träge, am besten noch bei alkalischer Reaktion, Zuckerzusatz hob es ganz auf. Bei genauerem Verfolg der Konidienentstehung zeigte sich, daß in einer Stunde meist zwei abgeschnürt wurden.

5) *P. luteum* Zuk. Die Konidienmessungen ergaben im Mittel $3,2 \times 2,2 \mu$, die Schwankungen sind auch hier gering ($3—3,6 \mu \times 2—2,4 \mu$). Kulturen wurden, da das Untersuchungsmaterial nicht mehr keimfähig war, nicht gemacht.

6) *P. purpurogenum* nov. spec.

Die Art soll von Fleroff aus unreinem *Aspergillus Oryzae* (Koji) isoliert sein, das Material stammte aus dem Králschen Laboratorium. Konidienrasen grün, sterile Polster rötlich bis rot, neben dem roten wird auch gelbes Pigment gebildet. Konidienträger ähnlich denen des *P. luteum* mit länglich-runden Konidien von $2,8 \times 1,7 \mu$ im Mittel (Grenzen $2,6—3 \times 1,6—2$) in langen Ketten (oft 35—40) und sogleich nach Abschnürung von definitiver Größe. Temperaturoptimum ca. 30°, unter 15° kein Wachstum, Maximum gegen 40°; saure und alkalische Gelatine werden allmählich verflüssigt, doch nicht bei Zuckerzusatz.

Der Farbstoff entsteht nur auf Zuckergelatine, Kartoffel- und Agarnährböden, er ist löslich in Alkohol, Wasser, Essigsäure mit purpurroter bis purpurvioletter Farbe; Näheres ist nicht bekannt. Ascusfrüchte oder Sklerotien wurden nicht beobachtet.

P. rubrum nov. spec.

Von Grassberger isoliert, doch bislang nicht beschrieben. Sterile Rasen auf Kartoffeln bräunlich-gelb bis rotbräunlich, Konidien-

dienrasen dunkelgrün, meist wenig umfangreich. Verflüssigt wurde nur Gelatine ohne Zuckerzusatz. Erzeugt gelbes bis gelbrotes Pigment als Hypheninkrustation. Konidienträger ähnlich denen der vorhergehenden Art, Konidien jedoch kugelig, $2,3 \mu$ im Durchmesser, lose zusammenhängend und nur in kleinen Verbänden. Temperatur optimum $30-35^{\circ}$, auch noch bei Bruttemperatur, doch nicht unter 15° gedeihend. Der Farbstoff wird nur bei Kohlenhydratnahrung gebildet, durch sein Verhalten gegen Lösungsmittel erwies er sich von dem der vorigen Art verschieden (unlöslich in Alkohol u. a.). Nur die Rasen dieser Art blieben im Alter rein dunkelgrün, die der anderen gleichgefärbten Species nehmen graue Töne an. Ascusfrüchte unbekannt.

Die Feststellungen bei den einzelnen Arten sind in Tabellen zusammengefaßt, es sei davon hier die Tabelle der Konidienmaße wiedergegeben, welche die Bedeutung dieser für die Speciesunterscheidung anschaulich vor Augen stellt:

Species	Konidiengröße (μ)	Konidienform
<i>P. brevicaula</i>	1) 6,5 im Durchm. 2) 10×6	kugelig und birnförmig
<i>P. glaucum</i>	4,1 im Durchm.	kugelig
<i>P. olivaceum</i>	$8,4 \times 5,3$	ellipsoidisch
<i>P. italicum</i>	$5,1 \times 3,3$	länglich-oval
<i>P. luteum</i>	$3,2 \times 2,2$	eiförmig
<i>P. purpurogenum</i>	$2,8 \times 1,7$	kugelig-oval
<i>P. rubrum</i>	2,3 im Durchm.	kugelig

5 von diesen vermochte Verf. an ihren Standorten aufzufinden (Würzburg, Stuttgart), *P. brevicaula* fand sich auf einem Rest alter Tapete, *P. olivaceum* und *P. italicum* auf Orangen und Zitronen, *P. rubrum* auf altem Stroh im Hühnerstall, *P. glaucum*, wie zu erwarten, fast überall; die beiden auf Südfrüchten vorkommenden Arten werden offenbar, wie Versuche zeigten, mit diesen eingeführt.

An die Mitteilung seiner experimentellen Ergebnisse schließt Verf. einige kritische Bemerkungen über die *Penicillium*-Arten der Literatur im Anschluß an die bei Saccardo (Sylloge. Vol. IV) gegebenen Diagnosen; hier werden insbesondere kurz erörtert *P. brevicaula*, *P. glaucum*, *P. digitatum* Fres., *P. griseum* Bon., *P. pruriosum* Salisb., *P. candidum* Lk., *P. roseum* Lnk., und mit Recht hebt Verf. hervor, daß im allgemeinen die alten Diagnosen zu einer Erkennung der Arten unzureichend sind. Das Aufräumen mit diesen alten Beschreibungen in den Floren ist auch nach Ansicht des Ref. eine im Interesse der Schaffung klarer Verhältnisse liegende notwendige Forderung, es hat schlechterdings keinen rechten Sinn, immer wieder Species aufzuführen, die doch niemand erkennen kann. Leider zählt auch die neue Auflage von Rabenhorsts Kryptogamenflora (Bd. I. Abt. VIII. Lfg. 94. 1904. p. 155 u. f.) nicht weniger als 32 Arten auf, ohne sich scharf mit den alten unkenntlichen auseinanderzusetzen, und zum Uebermaß

wurden kürzlich von Diercks¹⁾ nicht weniger als 23 neue Speciesnamen gemacht, ganz unbekümmert darum, ob diese nach eigener subjektiver und durch nichts begründeter Meinung des Autors als verschieden betrachteten Pilze nun mit schon früher bekannten übereinstimmen oder nicht. Wir stehen also heute vor ± 60 angeblichen Arten, ohne zu wissen, woran wir rund $\frac{4}{5}$ erkennen sollen. Gerade bei der damit wieder den Gipfel erreichenden Verwirrung ist eine Arbeit, wie die von Stoll, welche hier durch nicht mühelose experimentelle Untersuchung zu klären sucht, unbeschadet einzelner kleinerer Ausstellungen, dankbar zu begrüßen. Die mancherlei Schwierigkeiten bietenden *Penicillium*-Arten lassen sich nicht gut ohne einige eigene Formenkenntnis in Bausch und Bogen abtun, schon die richtige Beschreibung und Abgrenzung einer einzigen Art verlangt etwas Arbeit, was soll man aber zu neuesten Diagnosen sagen, die angesichts der bekannten Variabilität dieser Formen greifbare Unterschiede überhaupt nicht bieten? Im günstigsten Falle geht daraus hervor, daß dem Autor selbst eine Unterscheidung nicht möglich war.

Das Verdienst der Stoll'schen Arbeit wird noch durch die auf 5 Tafeln beigegebenen Abbildungen der beschriebenen 7 Arten erhöht; Tafel 1 bringt die Konidien (bei derselben Vergrößerung gezeichnet) vergleichend nebeneinander gestellt, was die Unterschiede in Form und Größe prägnant wiedergibt. Man kann nur wünschen, daß auch anderen Arten dieser Gattung eine gleich liebevolle fleißige Bearbeitung zu teil wird. Wehmer (Hannover).

Mikitsky, Jacob, Ueber die Beeinflussung der Entwicklung einiger Schimmelpilze durch ihre Stoffwechselprodukte. [Inaug.-Diss. Basel.] 8°. 93 p. Leipzig 1904.

Alle antagonistischen gegenseitigen Beeinflussungen der untersuchten Species unter den vom Verf. ausgeführten Kulturbedingungen lassen sich auf Aciditätsveränderungen zurückführen.

Die Veränderungen in den Kulturflüssigkeiten, welche die Pilzentwicklung in späteren Kulturen befördern, sind für alle untersuchten Species gemeinsam und wahrscheinlich identische Erscheinungen.

Unter allen untersuchten Ernährungsbedingungen ruft die Schimmelpilzkultur in der Kulturflüssigkeit einige nicht näher bekannte Veränderungen hervor, die auf späteren Kulturen eine befördernde Wirkung ausübt.

Unter gewissen Ernährungsbedingungen ist diese befördernde Wirkung durch andere entgegengesetzte Beeinflussungen verdeckt (z. B. durch H- resp. OH-Ionenanhäufung bei N-Konsum aus den Ammonsalzen der anorganischen Säuren resp. bei Peptonzerspaltung u. s. w.). Nach der Beseitigung der verdeckenden Ursachen tritt die erwähnte Beförderung wieder hervor.

Eine hemmende Wirkung ist unseren gewöhnlich gebrauchten

1) Ann. soc. sc. de Bruxelles, T. XXV. 1901. (S.-A.) Ohne Abbildung oder genauere Beschreibung, die auch bislang nicht gefolgt sind.

Nährmedien (Zucker, Glycerin u. s. w. als C-Quelle und Ammonsalze der anorganischen Säuren als N-Quelle) kann nur durch eine Aciditätserhöhung hervorgerufen werden; diese Acidität kann entweder durch die bei N-Konsum disponibel werdende anorganische Säure oder durch eine Anhäufung der freien Oxalsäure verursacht werden.

Unter allen Ernährungsbedingungen liefert nur die Zerspaltung von Glykosiden einige schädliche Produkte, welche nicht durch ihre H- resp. OH-Ionen wirken.

Alle gegenseitigen Beeinflussungen der untersuchten Species in den aufeinanderfolgenden Reinkulturen sind einerseits durch eine beschleunigende Wirkung von unbekannten Produkten, andererseits durch die Anhäufung von H- resp. OH-Ionen und durch die Empfindlichkeit der betreffenden Arten gegen diese bedingt.

Die Arbeit wurde im Leipziger botanischen Institut von W. Pfeffer angefertigt; benutzt wurden fast für alle Kulturen Erlenmeyersche Kolben verschiedener Größe.

E. Roth (Halle a. S.).

Lloyd, F. E., Bau des Gerstenkornes und Physiologie der Keimung. (Allg. Brauer- u. Hopfentz. Jahrg. XLIV. 1904. No. 237.)

Verf. bespricht eingehend die wesentlichsten Punkte im Bau des Gerstenkornes und die physiologischen Vorgänge während der Keimperiode (während des Mälzens). Danach stellt das Gerstenkorn einen im Anfangsstadium der Entwicklung befindlichen Embryo dar, der mit einer großen Menge Reservenahrung (dem Mehlkörper) versehen ist. Letztere repräsentiert eine entsprechende Menge Energie. Im keimenden Gerstenkorne finden sich die Cellulose angreifende Zytase, die Stärke hydrolysierende und schließlich in Dextrin und Maltose überführende Diastase, auf die Fette einwirkende Lipase und endlich die Eiweißstoffe verändernde proteolytische Enzyme (Peptase, Tryptase, Erepsin). Die mit der Keimung verbundenen Probleme sind zahlreich und verwickelt und können nicht durch empirische Methoden gelöst werden. Zuchtwahl und Anbau der Braugerste sind wichtig. Kausch (Charlottenburg).

Grismayer, Ueber das Vorkommen von Erepsin in der Bierhefe. (Allg. Brauer- u. Hopfentz. Jahrg. XLIV. 1904. No. 202.)

Verf. gibt einen Ueberblick über die Arbeiten Cohnheims, Vernons, Butkewitschs, Vines, welche sich alle mit der Erforschung des zuerst in der Darmwand entdeckten Enzyms Erepsin bzw. des Entero- und Pankreatorepsins beschäftigt haben.

Kausch (Charlottenburg).

Chapman, Alfred, Ueber die Infektion mit wilden Hefen. (Allg. Brauer- u. Hopfentz. Jahrg. XLIV. 1904. No. 236.)

Die wilden Hefen erteilen dem Biere unangenehme Eigen-

schaften (unangenehmen Geschmack und Gestank) und sind ihm noch gefährlicher als die Bakterien. Die Würze wird mit wilder Hefe meist auf dem Kühlapparat oder in den Gärbottichen infiziert. Man kann die Würze dadurch dagegen schützen, daß man die Temperatur der zu kühlenden Würze nicht unter 65° C fallen läßt, bei welcher Temperatur eine sichere Sterilisation erfolgt. Da die wilde Hefe mit dem in der Atmosphäre befindlichen Staube in die Kühlapparate hineingelangt, so tut man gut, die Fenster und Luftlöcher des betreffenden Kühlraumes mit feiner, ständig feucht gehaltener Leinwand zu bedecken. Ferner kann der Staubbildung durch geeignetes Spritzen mit Wasser vorteilhaft vorgebeugt werden. Größere Infektionsquellen als die Luft sind sodann mit wilden Hefen verunreinigte Zeuge und schlecht gereinigte Räume in der Brauerei und Mälzerei. Kausch (Charlottenburg).

Luft, G., Die Infektion im Gärkeller. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Jahrg. XXVII. 1904. No. 32.)

Verf. berichtet über eine Anzahl von im Betriebe ausgeführter Untersuchungen des stud. E. de Fine-Bunkeflod und kommt zu folgenden Schlüssen: Die Luftinfektion im Gärkeller ist praktisch so gut wie belanglos. Weit größere Bedeutung hat die Beschaffenheit und Behandlung der Bottiche, sowie des Gärkellerpflasters, da letzteres in der Regel *Sarcina* enthält. Jedoch noch bedeutungsvoller erscheint der Reinheitszustand der Hefe, indem bei der üblichen Hefeabgabe schon ganz geringe Verunreinigungen praktisch ins Gewicht fallen. Es empfiehlt sich, die Decke des Gärkellers häufig zu kalken und zu desinfizieren, eventuell nach vorhergehendem Abschlagen des alten Bewurfs oder Auskratzen des alten Mörtels aus den Fugen, damit dem nicht ganz zu verhütenden Eintropfen von der Decke die Gefährlichkeit genommen wird. Kausch (Charlottenburg).

de Cordemoy, J., Sur les mycorrhizes des racines latérales des Poivriers. (Compt. rend. de l'Acad. des sciens. T. CXXXIX. p. 83.)

Wie Verf. dies schon für die Vanillepflanze nachweisen konnte, sind auch die Luftwurzeln des Pfeffers symbiotisch von Mykorrhizen durchwachsen, welche die engen Beziehungen zwischen ihnen und den lebenden Wirtspflanzen, denen sie anhaften, vermitteln. Noch besser, wie bei der Vanillepflanze, kann man beim Pfeffer beobachten, wie das Mycelium zahlreiche Verzweigungen in die Korkschicht sendet, wo sie sehr deutlich zu verfolgen sind.

Es scheint sicher, daß dieser in den Wurzeln des Pfeffers lebende Pilz die Entwicklung desselben begünstigt, indem er ihm gewisse Nährstoffe zuführt, welche die lebende Pflanze erzeugt, die von den Wurzeln umschlungen wird. So erklärt sich die schon lange bekannte Tatsache, daß Pfefferpflanzen weit besser gedeihen und fruktifizieren, wenn sie sich an lebenden Pflanzen

emporschlingen können, als wenn ihnen zu diesem Zwecke nur abgestorbene Gewächse zur Verfügung stehen.

Koeppen (Danzig).

Bubák, Fr., In Böhmen im Jahre 1902 aufgetretene Pflanzenkrankheiten. (Zeitschr. f. d. Landw. Versuchsw. in Oesterreich. 1904. p. 731.)

Im Berichtsjahre traten Krankheiten, weder im größeren Rayon, noch im ganzen Lande epidemisch auf. 15 Proz. der untersuchten Krankheiten wurde durch tierische Organismen verursacht. Getreide, und zwar die Winterkornsaaten, wurden durch die Zwergzikade (*Jassus sexnotatus*) stark beschädigt. Auf Hafer hat die Rübenematode sehr geschadet. In einem Bezirke wüteten schon seit Jahren auf Getreidesaaten die Larven des Getreidelaukäfers (*Zabrus gibbus*), so daß stellenweise Sommerweizen und Gerstensaaten vollständig vernichtet wurden. Stellenweise wurden die Halmfliege (*Chlorops taeniopus*), Gerstenbrand (*Ustilago Hordei*) und Maisbrand (*U. Maydis*) beobachtet. Späte Maifröste vernichteten in einem Falle den vierten Teil Weizenähren.

Zuckerrübe. Großen Schaden verursachte der Wurzelbrand, der hauptsächlich in der ungünstigen Witterung während der ersten Entwicklung der Zuckerrübe seine Ursache hatte. Weitere Schädigungen wurden durch die Larven der Rübenfliege (*Anthonomya conformis*), durch den Pilz *Rhizoctonia violacea* (epidemisch aufgetreten), Rübenrost (*Uromyces Betae*) und die schwarze Blattlaus (*Aphis Papaveris*) verursacht.

Hülsenfrüchte und Futterpflanzen. *Sclerotinia Trifoliorum* wurde auf Rot- und Bastardklee und auch auf dem Wundklee (*Anthyllis vulneraria*) beobachtet. Letzterer scheint für den Pilz zugänglicher zu sein als Weiß- und Rotklee. Erbsen und Kichererbsen waren von der Milbenspinne (*Tetranychus telarius*) befallen. Kartoffeln litten an dem Tiefschorf und an Mohn hatten die Larven des Käfers *Coeliodes fuliginosus* großen Schaden verursacht, woran vielleicht aber auch Bakterien einen gewissen Anteil hatten.

Gemüsepflanzen. Verf. beobachtete schon seit 3 Jahren an dem schwarzen Meerrettich eine Krankheit, welche darin besteht, daß sich in den Gefäßen eine gummiartige Masse bildet, wodurch ein solcher Meerrettich viel an Wert und Qualität verliert. Krankheitserregende Organismen wurden bis jetzt nicht gefunden und die Krankheit dürfte durch Erschöpfung irgend eines Nährstoffes im Boden entstehen. Zur Klarlegung würden systematische Düngungsversuche auszuführen sein, in Verbindung mit der chemischen Analyse gesunder und kranker Pflanzen. Zwiebeln litten am Zwiebelbrand (*Urocystis Cepulae*). Die Krankheit zeigte sich auf den jungen Pflanzen in der Weise, daß die Blätter und Zwiebelchen in kleinerem oder größerem Umfange mit schwarzen Sporen erfüllt waren, welche durch die Oberhaut durchschimmerten. Es entstehen dann auf der Pflanze schwarze Flecken und erstere verfault rasch. Zur Bekämpfung der Krankheit wurden

sämtliche Mistbeete (Bretter und Fenster) mit einer starken Lösung von Kupfervitriol gewaschen; auch der Gartenboden wurde mit einer 10-proz. Lösung von Kupfervitriol durchtränkt und hierauf der Boden sämtlicher Mistbeete stark mit ungelöschem Kalk bestreut, um die giftigen Wirkungen des Kupfervitriols zu neutralisieren. Diese Bekämpfungsmaßregel wurde noch ein Jahr mit solchem Erfolge wiederholt, daß auch nicht eine Pflanze mehr erkrankte. Zwiebeln waren ferner von dem Schimmel *Peronospora Schleideni* Ung. und dem Pilz *Macrosporium parasiticum* Thüm. befallen und beide Pilze führen frühzeitige Fäulnis der Blätter und der Zwiebel selbst herbei. Angesteckte Pflanzen sind vorsichtig auszureißen und zu vernichten. Eine andere Zwiebelkrankheit wurde durch das, vielleicht zu dem Pilz *Sclerotinia bulborum* gehörige *Sclerotium cepivorum* hervorgerufen, wobei die befallenen Zwiebelchen, manchmal auch die Blattscheiden, mit winzigen schwarzen Körperchen verschiedener Form bedeckt waren. Der manchmal zugleich beobachtete Pilz *Botrytis vulgaris* Fries hängt vielleicht in seiner Entwicklung mit der genannten *Sclerotinia* zusammen. Der auf einer Zwischensaat beobachtete Pilz *Vermicularia circinans* Berk. wird gesunden Zwiebeln direkt nicht schädlich, nachdem er ein Saprophyt ist. An Kraut wurden die Kohlhernie (*Plasmodiaphora Brassicae* Wor.) und *Peronospora parasitica* Tul. beobachtet. Weiter wurden beobachtet die Kohlblattlaus (*Aphis Brassicae*) und die Anschwellungen der Kohlstrünke, verursacht durch den Käfer *Ceutorhynchus sulcicollis*. Gurken litten durch die Milbenspinne und Spinat durch den Schimmel *Peronospora effusa* Rabh.

Obstbäume. Apfelbäume wurden durch die Blattlaus (*Aphis Mali*), die Motten *Hyponomeuta malinella* und *Coleophora hemerobiella*, die Schildläuse *Lecanium Piri* und *Mytilaspis pomorum* und die Blutlaus (*Schizoneura lanigera*) beschädigt. Von parasitischen Pilzen wurde für Böhmen zuerst *Sphaerotheca Mali* Burill (Apfelbaum-Mehltaupilz) konstatiert. Außer Amerika ist dieser Pilz am meisten in Tirol bekannt und es ist möglich, daß er von hier eingeschleppt wurde. Die Anwendung bis zu einer 10-proz. Kupferkalkbrühe blieb erfolglos. Auf Birnbäumen verbreitet sich immer mehr in Böhmen der Pilz *Fusicladium pirinum*, und zwar auf Blättern wie auch an den jungen Aestchen. Weitere Schädigungen wurden durch Blattläuse (*Aphis Cerasi*), durch die Milbe *Phytoptus Pyri* und die Zwetschkenlaus (*Aphis Pruni*) verursacht.

Weinrebe, Hopfen und andere Kultursträucher. Auf Weinreben wurde eine Filzkrankheit, verursacht durch eine Milbe (*Phytoptus Vitis*) beobachtet, ferner der Pilz *Plasmodium viticola*. Hopfenblätter waren durch die Hopfenlaus (*Aphis Humuli*) beschädigt; an den süßen Exkrementen des Schädlings war ungemein üppig der Pilz *Fumago vagans* entwickelt. Sehr verbreitet war die Milbe *Phytoptus Ribis* auf Johannisbeeren. Der seltene Pilz *Caeoma confluens* wurde auf Stachelbeerblättern beobachtet; diese Aecidienform gehört als

Frühjahrs- generation zum Roste *Melampsora Ribesii viminalis* Kleb., welcher auf der Korbweide vorkommt.

Zierpflanzen. Bei Rosen war die sogenannte Blütenproliferation entwickelt, d. h. die Blütenachse verlängerte sich in ein Aestchen mit grünen Blättern. Fliederblätter wurden durch die Raupen der Motte *Gracillaria syringella* beschädigt.

Forstkulturpflanzen. Nadeln von Fichten waren von dem Roste *Chrysomyxa Abietis* befallen und auf Lärchenästchen wurden die Blattlaus *Chermes Laricis* und die Mottenräupchen von *Coleophora laricella* beobachtet.

Stift (Wien).

Smith, Erwin, F., The effect of black rot on turnips. (U. S. Department of Agriculture. Bur. of Plant Industry. Bulletin No. 29. 1903.)

Die Arbeit lehnt sich an eine Vorarbeit des Verf. an, die er im Centralblatt für Bakteriologie etc. veröffentlicht hat. Er hat die Bakterienkrankheit der Rüben, welche durch *Pseudomonas campestris* hervorgerufen wurde, weiter studiert, gewann Reinkulturen und infizierte direkt die Rüben. Die Zerstörungen der Zellwände werden durch viele Abbildungen erläutert.

Matouschek (Reichenberg).

Davis, B. M., *Tilletia* in the capsule of bryophytes. (Botan. Gazette. Vol. XXXVI. 1903. p. 306—307.)

Wie Cavers Mikrosporen bei *Pallavicinia Lyellii* und *P. hibernica* beobachtet hat, so konnte Verf. solche auch in den Sporogonien von *Ricciocarpus natans* beobachten. Auch diese Sporen gehören einer *Tilletia* an.

Matouschek (Reichenberg).

D'Ippolito, G. e Traverso, G. B., La *Sclerospora* Sacc., parassita delle infiorescenze virescenti di *Zea Mays*. (Stazioni sperimentali agrarie. Vol. XXXVI. 1903. p. 975—997. Mit 3 Taf.)

Cugini und Traverso (1902) wiesen auf die Anwesenheit von *Sclerospora macrospora* Sacc. in einigen vergrünenden Blütenständen von *Zea Mays* hin. Dieselben Exemplare werden jetzt von den Verff. näher untersucht, und zwar beschreibt d'Ippolito die innere und äußere Morphologie der mißgebildeten Blütenstände, welche fast ausschließlich männlich sind, während Traverso seine frühere Beschreibung des Parasiten unter gewissen Erweiterungen wiedergibt. Ref. kann nur bedauern, daß man ziemlich nutzlose Beschreibungen von fixiertem Material gegeben hat, ohne die Resultate von Kulturen oder wenigstens der Beobachtung in vivo abzuwarten. Denn die Anwesenheit eines Pilzes kann noch nicht seine Beziehungen zu einer solchen Mißbildung beweisen.

Pantanelli (Modena).

D'Ippolito, G., Sulla puntatura del frumento. (Stazioni sperimentali agrarie. Vol. XXXVI. 1903. p. 1009—1014.)

Man begegnet oft solchen Weizensamen, die einen schwarz-braunen Fleck im Gebiete des Schildchens aufweisen. Es werden dabei das Epikarp und die darunter liegende Stärkeschicht angegriffen, während der Embryo kaum davon leidet und seine normale Keimkraft bewährt. Ein Mycel wohnt unter der Schale der ruhenden Samen und dringt bei der Keimung in den ganzen Samen sowie in den Stengel der Keimpflanze ein, welche bald gelbe Flecke aufweist. Aus dem Samen ragen Lufthyphen hervor und gliedern schnell Konidien ab. Die Kultur dieser Konidien auf geeigneten Substraten ließ den Pilz als *Cladosporium herbarum* Link erkennen.
Pantanelli (Modena).

D'Ippolito, G., Sul *Cladosporium Pisi* Cug. e Macch. 9 p. Trani 1904.

Die Schale von Erbsensamen zeigt oft Pusteln, welche nach Cugini und Macchiati (1890) von *Cladosporium Pisi* hervorgerufen werden. Verf. zeigt durch sorgfältige Verfolgung der Pustelbildung, daß dieser Pilz erst nach dem Zerreißen der Epidermis hineingerät und die absterbenden Gewebe als Saprophyt bewohnt. Die Ursache der Krankheit ist unbekannt. Noch nicht geplatzte Auswucherungen zeigen einen hohen Zuckergehalt. Jedenfalls mahnt Verf. vor dem häufigen Vorgehen, Schimmelpilze für die Parasiten zu halten.
Pantanelli (Modena).

Eriksson, J., Nouvelles recherches sur l'appareil végétatif de certaines Urédinées. (Compt. rend. de l'Académie des sciences. T. CXXXIX. p. 85.)

Verf. zeigte früher, daß im Winterkorn, in der Zeit, wo keine Anschwellungen des gelben Rostpilzes (*Puccinia glumarum*) zu beobachten sind, die Pflanze auch keine Spur von Mycel enthält. Man findet aber in dieser Periode im größten Teil der Zellen ein körniges und vakuolenreiches Protoplasma, dem Verf. den Namen Mycoplasma gab, und das er sich durch eine innige Symbiose des Protoplasmas des Wirtes mit dem des Pilzes entstanden dachte. Sehr kurze Zeit vor dem ersten Auftreten der Uredofruktifikation findet man in unmittelbarer Nähe der Anschwellungen die ersten Spuren eines intercellularen Mycels, das der Verf. Protomycelium nennt. Genaue Untersuchungen ergaben nun, daß das Protomycelium vom Mycoplasma abstammt. Das Stadium des Protomyceliums stimmt in allen wesentlichen Punkten beim braunen Rostpilz des Roggens und beim gelben der Gerste und des Kornes überein, nur besitzt es beim braunen Rostpilz eine schwächere Struktur als beim gelben. Das Stadium des Protomyceliums dauert nicht lange an, denn bald entsteht ein echtes Mycel. Die zuerst im Plasma zahlreich entstandenen Nukleolen verschwinden wieder, es bilden sich viele Zellwände, das Mycelgewebe läßt ein Pseudoparenchym entstehen, auf dem sich ein Hymenium entwickelt.

Noch ehe die sporentragenden Filamente auftreten, erscheinen reichlich große Nukleolen in den Zellen des Hymeniums.

Koeppen (Danzig).

Eriksson, J., Sur l'appareil végétatif de la rouille jaune des Céréales. (Comptes rendus hebdom. des séances de l'académie des sciences. T. CXXXVII. Paris 1903. p. 578–580.)

Es werden im Verein mit Georg Tischler vom Verf. die ersten Entwicklungsstadien des Gelbrostes auf histologischem Wege untersucht. 4 Stadien der Entwicklung werden unterschieden:

1) Mykoplasma. Infizierte Zellen des Getreideblattes besitzen ein körniges Plasma mit Vakuolen, während zugleich der Kern und die Chlorophyllkörner unverändert bleiben. Vermöge der Mykoplasmatheorie des Verf. wird dieses Stadium für eine Symbiose zwischen dem Plasma des Pilzes und demjenigen der Nährpflanze gehalten. 2) Protomycelium. Als solches werden protoplasmatische Massen gedeutet, die die Intercellularräume entweder ganz oder teilweise ausfüllen. Diejenigen Zellen des Getreideblattes, welche sich mit dem „Protomycel“ berühren, zeigen eine abnormale pathologische Zellkernvergrößerung, während in den plasmatischen Massen selbst wohl Kerne, aber keine Scheidewände zu bemerken sind. 3) Mycelium. Querscheidewände treten erst mit dem Schwunde der Kerne des Protomycels auf. Das Protomycel wird zum eigentlichen Mycel; aus diesem entsteht durch weitere Teilungen ein Pseudoparenchym. 4) Das sporentragende Hymenium (als letztes Stadium) entsteht aus dem Pseudoparenchym.

Matouschek (Reichenberg).

Arthur, J. C., New species of Uredineae. III. (Bulletin of the Torrey Botanical Club. Vol. XXXI. 1904. p. 1–8.)

Verf. beschreibt in der vorliegenden Arbeit 16 neue Rostpilzarten, die teils aus der Gegend von Trans-Mississippi, teils aus Porto-Rico stammen. Die Pilze seien hier kurz aufgeführt:

- 1) *Uromyces Pavoniae* Arth. III. auf *Pavonia racemosa*. (*Leptouromyces*).
- 2) *Uromyces Hellerianus* Arth. II. u. III. auf *Cayaponia racemosa*.
- 3) *Puccinia Canadensis* Arth. III. auf *Viola orbiculata* (*Micro-Puccinia*).
- 4) *Puccinia Parnassiae* Arth. III. auf *Parnassia fimbriata*. (*Micro-Puccinia*?).
- 5) *Puccinia Sieversiae* Arth. III. auf *Sieversia turbinata*.
- 6) *Puccinia Bakeriana* Arth. II. u. III. auf *Heracleum lanatum*.
- 7) *Puccinia Diplachnis* Arth. II. u. III. auf *Diplachne dubia*.
- 8) *Puccinia Helianthellae* Arth. II. u. III. auf *Helianthella Nevadensis*. Hierzu gehört wahrscheinlich das *Aecidium Helianthellae* Arth.
- 9) *Ravenelia Caesalpiniae* Arth. 0. II. u. III. auf *Caesalpinia spec.*
- 10) *Ravenelia Portoricensis* Arth. II. auf *Cassia emarginata*.
- 11) *Uredo superior* Arth. II. auf *Fimbristylis spadicea*.
- 12) *Aecidium Onosmodii* Arth. 0. u. I. auf *Onosmodium molle* und *O. Carolinianum*.

13) *Aecidium Mertensiae* Arth. O. u. I. auf *Mertensia paniculata* und *M. Sibirica*.

14) *Aecidium malvicola* Arth. O. u. I. auf *Althaea rosea*, *Malvastrum coccineum* und *Callirrhoe involucrata*.

15) *Aecidium occidentale* Arth. O. u. I. auf *Clematis Douglasii*.

16) *Aecidium recedens* Arth. O. u. I. auf *Solidago mollis*.

Jacky (Bern).

Arthur, J. C., Cultures of Uredineae in 1903. (Journal of Mycology. Vol. X. 1903. p. 8—21.)

Die vorliegende Arbeit bildet des Verf. vierte Serie von Kulturversuchen mit Rostpilzen und bringt, wie die drei vorangegangenen, wiederum manch beachtenswertes Resultat. Abgesehen von acht negativ ausgefallenen Versuchsreihen, die ja an und für sich ebenso wertvoll und interessant als Versuche mit positivem Resultate sind, für die wir aber auf das Original verweisen müssen, läßt sich die Arbeit in zwei Teile zerlegen:

I. Bestätigungen bereits früher erhaltener oder schon allgemein bekannter Resultate:

1) *Puccinia Impatiensis* (Schw.) Arth. Teleutosporen auf *Elymus virginicus* erzeugten Pykniden und Aecidien auf *Impatiens aurea*.

2) *Puccinia amphigena* Diet. Teleutosporen auf *Calamovilfa longifolia* wurden mit Erfolg auf *Smilax hispida* gesät, auf welcher Pflanze Pykniden und Aecidien erzeugt wurden.

3) *Puccinia Andropogonis* Schw. Teleutosporen auf *Andropogon scoparius* erzeugten Pykniden und Aecidien auf *Pentstemon hirsutus*.

4) *Puccinia albiperidia* Arth. Teleutosporen auf *Carex gracillima* erzeugten Pykniden und Aecidien auf *Ribes Cynosbati* und hatten auch auf *Ribes Uva-crispa* (= *Ribes Grosularia*) Erfolg.

5) *Puccinia Helianthi* Schw. Mit Teleutosporen von *Helianthus mollis* stammend konnten erfolgreich *Helianthus mollis* und *H. annuus* infiziert werden; ein schwacher Erfolg (Pykniden) trat auch auf *H. tomentosus* ein, wogegen die Infektion auf *H. strumosus*, *H. tuberosus*, *H. grosse-seratus*, *H. rigidus* und *H. Maximiliani* negativ verlief.

6) *Uromyces Phaseoli* (Pers.) Wint. Die vermutete Heteröcie der amerikanischen Form dieses Pilzes existiert nicht, denn mit Teleutosporen von *Strophostyles helvola* konnten auf derselben Nährpflanze Pykniden und Aecidien erzeugt werden, währenddem eine gleichzeitige Infektion auf *Euphorbia commutata* keinen Erfolg hatte.

II. Neu sind die Resultate folgender Versuche:

1) *Melampsora Medusae* Thuem., der amerikanischen Vertreter der europäischen *Melampsora populina* Lév., bildet ihre Uredo- und Teleutosporen auf *Populus deltoides*, die

Pykniden- und Aecidiengeneration auf *Larix decidua*. Verf. gibt eine Diagnose des Pilzes.

2) *Uromyces Lespedezae-procumbentis* (Schw.) Curt. Teleutosporen von *Lespedeza capitata* stammend, erzeugten auf derselben Nährpflanze das *Aecidium leucospermum* B. et C.

3) *Puccinia caulicola* Tr. et Gall. Teleutosporen von *Salvia lanceolata* stammend, erzeugten auf derselben Nährpflanze Pykniden und Aecidien.

4) *Uromyces Solidagini-Caricis* Arth. Teleutosporen von *Carex varia* stammend, erzeugten Pykniden und Aecidien auf *Solidago canadensis*, *S. flexicaulis*, *S. serotina* und *S. caesia*. Verf. gibt eine Diagnose des neuen Pilzes.

5) *Puccinia pustulata* (Curt.) Arth. Mit Teleutosporenmaterial auf *Andropogon furcatus* und *A. scoparius* wurde das *Aecidium pustulatum* Curt. auf *Comandra umbellata* hervorgerufen.

6) *Puccinia Eatoniae* Arth. *Aecidium Ranunculi* Schw. auf *Ranunculus abortivus* gehört in den Entwicklungskreis einer Puccinie auf *Eatonia Pennsylvanica*. Der Pilz wird unter dem Namen Pucc. *Eatoniae* Arth. beschrieben.

7) *Puccinia hydnoidea* (B. et C.) Arth. *Aecidium Hydnoideum* B. et C. auf *Dirca palustris* gehört in den Entwicklungskreis einer Puccinie auf *Bromus ciliatus*, die unter dem Namen *Puccinia hydnoidea* (B. et C.) Arth. beschrieben wird..
Jacky (Bern).

Kusano, Shunsuke, Notes on Japanese fungi. I. Uredineae on *Sophora*. (The botanical Magazine, Tokyo. Vol. XVIII, 1904. p. 1—6.)

Als neu beschrieben: *Uromyces Sophorae-flavescentis* n. sp. (auf *Soph. flavescentis*, ein *Brachyuromyces*) und *Aecidium Sophorae* n. sp. (auf *Sophora platycarpa* auftretend und Krümmungen der Blattstiele und Blattmittelrippen verursachend). Schon bekannt waren 2 andere Arten: *Uromyces truncicola* P. Henn., der einen sehr gefährlichen Krebs auf den Ästen erzeugt, und *Uromyces Sophorae-japonicae* Dietel, der ein *Brachyuromyces* ist. Matouschek (Reichenberg).

Griffiths, David, Concerning some West American smuts. (Bull. Torr. Bot. Cl. Vol. XXXI. 1904. p. 83—88. Mit einigen Textfiguren.)

Neu werden beschrieben: *Ustilago lycuroides* (in den Ovarien von *Lycurus phleoides*), *Ust. calcaria* (auf den Blättern und Blattscheiden von *Bouteloua breviseta*), *Ust. Scolochloae* (in den Internodien von *Scolochloa festucacea*), *Tilletia Wilcoxiana* (in den Ovarien von *Stipa eminens* var. *Andersonii*), *Thecaphora Thornberi* in den Ovarien von *Clathorix lanuginosa*, *Sorosporium contortum*

(in den oberen Internodien von *Andropogon contortus*) und *S. Eriochloae* (in den Ovarien von *Eriochloa punctata*).

Zu schon bekannten *Ustilago*- und *Tilletia*-Arten werden Aufklärungen gegeben. Matouschek (Reichenberg).

Baar, Rudolf, Beitrag zur Kenntniss der Lebensweise des Myceliums von *Ustilago violacea* Pers. (Sitzungsberichte des deutschen naturw.-medizin. Vereins „Lotos“ in Prag. Bd. XXIII. 1904. Jahrg. 1903. No. 8. p. 279—285. Mit 6 Textabbildungen.)

Verf. bringt als erster den Beweis und den Grund dafür, daß dieselben Pflanzenstöcke oft Jahre hindurch stets von demselben Pilze befallen sind. Er studierte alle Organe der Wirtspflanze *Melandrium pratense* Röhl auf den obengenannten Pilz hin und gelangt zu folgenden Resultaten: Das aus den Sekundärkonidien hervorgehende Mycel dringt in den Stengel ein und wächst mit ihm weiter; doch es dringt andererseits auch in den Wurzelstock hinab. In diesem nimmt das Mycel Nährstoffe auf, im Stengel selbst aber wandert es nur in den nährstoffführenden Geweben. Eine Schädigung der Wirtspflanze tritt nicht ein, da keine Deformation nachgewiesen werden konnte. Die Antheren werden allerdings völlig zerstört, da alle befallen werden; die Fortpflanzung der Pflanze ist behoben. Honigsuchende Insekten verschleppen die Sporen weiter zu anderen Pflanzen. Daß gerade nur in den Antheren die Sporenbildung vor sich geht, ist wohl Anpassung, an der alle in den Antheren wuchernden Brandpilze festhalten. Im Herbst geht das Mycel mit dem Stengel zu Grunde, aber das im Wurzelstock lebende Mycel wird zu einem Dauermycel und perenniert, so daß im nächsten Sommer wieder dieselben Krankheitserscheinungen auftreten. — Die Untersuchungsmethoden werden genau angegeben. Matouschek (Reichenberg).

Magnus, P., Ein weiterer Beitrag zur Kenntnis der Gattung *Uredinopsis*. (Hedwigia. Bd. XLIII. 1904. p. 119—125. Mit 2 Tafeln.)

Nach einer kurzen Uebersicht über die Geschichte und die charakteristischen Merkmale der Gattung *Uredinopsis* Magn. weist Verf. die Zugehörigkeit verschiedener zum Teil unter anderen Namen bekannter, auf nordamerikanischen Farnen wachsenden Pilzen zur Gattung *Uredinopsis* nach und beschreibt sie als: *U. mirabilis* (Peck sub *Septoria*) P. Magnus (auf *Onoclea sensibilis*), *U. Atkinsonii* P. Magnus (auf *Aspidium Thelypteris*) und *U. Osmundae* P. Magn. (auf *Osmunda cinnamomea*). Verf. vermutet, daß es in Nordamerika noch viele *Uredinopsis*-Arten gibt und diese Gattung dort stärker vertreten ist als in Europa. Neger (Eisenach).

Oven, E. v., Ueber den Befall der verschiedenen Rosenarten durch *Phragmidium subcorticium* Schrank in den Anlagen des königl. pomologischen Institutes zu Proskau, O.-S. (Naturw. Zeitschr. f. Land- u. Forstw. 1904. Heft 4—5.)

Es wurden 214 Rosenstöcke in den Anlagen des Institutes bezüglich des Angriffes durch Rost untersucht und dieselben in 4 Gruppen, als „sehr stark befallen, mittelstark befallen, wenig befallen und frei“, eingeteilt. Ich erwähne die erste und letzte Gruppe, da bei der Wahl der Sorten erstere unbeachtet bleiben, letztere hingegen zur Verwendung kommen könnten. Sehr stark befallen waren: Earl of Dufferin, Louis von Houtte, Princesse de Bearn, Mr. John Laing, Mad. Victor Verdier, Senateur Vaisse, Mrs. R. G. Sharman Crawford, Jean Liabaud, Souvenir de William Wood, Baron Gonella, Ferdinand Chaffolte, Marie Baumann, Heinrich Schultheis, Magna charta, Duke of Connaught, Baronne de Rotschild, Dr. Andry, Ulrich Brunner fils. Paul Neyron, Prince Camille de Rohan, Oscar Cordel, Comte de Paris, Abel Carrière, Frère Marie Pierre, Ellen Drew, Empereur de Maroc, Monsieur Hoste, Baronesse de Rotschild, Souvenir d'Alexander Hardy. Rostfrei waren: Maréchal Niel, Souvenir de Catherine Guillot, Princesse Bonnie, Mlle. Christine de Noué, Sombreuil, Antoine Rivoire, Mrs. Käthe Schultheis, Ferdinand Bathel, Mister Stella Gray, Mrs. Tillier, Etoile de May, Bouquet d'or, Mosella, Kaiserin Augusta Victoria, Madama Creux, Triomphe de Pernet père, Madame Eugène Verdier, Alba rosea, Clotilde Soupert, Souvenir d'un ami, Madame Berard Homère, Perle de Lyon, Crimson Rambler, Duchesse Marie Salviati, Muriel Graham, White Pearl, Le Pactole, Lady Zoë Brougham, Madame Karoline Küster. — Am stärksten waren demnach die Remontanrosen, am wenigsten die Teerosen und deren Hybriden befallen. Mehltau (*Sphaerotheca pannosa* Wallr.) befand sich nur auf Mad. Abel Chatenay, Blanche Moreau, Perle de Lyon und Majesty.

Karl Pósch (Grinád, Ungarn).

Milesi e Traverso, Saggio di una monografia del genere *Triphragmium*. (Ann. mycol. Bd. II. 1904. p. 143—161.)

An Stelle der bisher meist üblichen Gliederung der Gattung *Triphragmium* in die Sektionen: *Microtriphragmium*, *Hemitriphragmium* und *Eutriphragmium* schlagen Verf. als natürlichere Gruppierung die folgende vor:

1. Sektion: *Xanthotriphragmium* (*Teleutosporae luteoferrugineae*, inermes).
 - I. *Teleutosporae membrana ± verrucosa*.
 - a) *Verrucae tantum circa porum germinantem limitatae*
T. setulosum.
 - b) *Verrucae per totam teleutosporam distributae*
 - α) *verrucae irregulares, interdum confluentes*
T. pulchrum.

- β) Verrucae typice regulares, semper discretæ
 * Teleutosp. subsphaeroideae T. ulmariae.
 ** Teleutosp. pyriformi-trigonae T. Isopyri.
 II. Teleutosporae membrana omnino levi T. Filipendulae.
 2. Sektion: Phaeotriphragmium (Teleutosporae umbrino-fuligineae, armatae).
 I. Aculei seu processus teleutosporarum apice dilatati, emarginati vel partiti.
 a) Aculei pro ratione copiosi: 10—18.
 α) Aculei breves, tantum 6 μ longitudinis attingentes
 T. Cedrelae.
 β) Aculei longiores, usque ad 12 μ T. clavellosum.
 b) Aculei minus copiosi: 6—10 T. Thwaitesii.
 II. Aculei seu processus teleutosporarum apice attenuati, integri
 T. echinatum.
 Dieser (aus dem Original wörtlich wiedergegebenen) Artenübersicht folgt eine genaue Beschreibung der einzelnen Arten nebst Angabe der Synonyme, des Vorkommens, der wichtigsten Exsiccatenwerke etc.
 Eine sehr schöne, kolorierte Tafel begleitet die Arbeit.
 Neger (Eisenach).

Boden, Fr., Die Stockfäule der Fichte, ihre Entstehung und Verhütung. 91 pp. Mit 1 Holzschnitt und 18 Textabbildungen. Hameln 1904.

Ein Werk, das auch den Forstmann sehr interessieren muß. Die Einteilung des Werkes ist folgende. 1. Kap.: Der gegenwärtige Stand der Stockfäulefrage; 2. Kap.: Das Faulen und Verwesen der Wurzeln ohne Pilztätigkeit; 3. Kap.: Die natürlichen Harzabsonderungen der Fichte; 4. Kap.: Der Rohhumus und die Mycorrhiza; 5. Kap.: Die Rotfäule durch Polyporus annosus; 6. Kap.: Die Fäule durch Agaricus-Arten; 7. Kap.: Die Fichte und die Buche; 8. Kap.: Die angeblichen Hartigschen Blitzspuren. Wer sich mit forst-mykologischen Studien beschäftigt, erfährt aus dem 5. und 6. Kapitel viel Neues. Die durch Polyporus annosus erzeugte Rotfäule, ihre Verteilung und ihr Auftreten sind sehr interessant. Verf. zählt zu den Baumverderbern nicht nur den Agaricus melleus, sondern auch viele andere Agaricus-Arten und führt als Ursache dieser Fäule forstliche Fehlgriffe auf, z. B. mangelnde Durchforstung und mangelnder Schutz gegen den Wind, Vorhandensein von Nässe.
 Matouschek (Reichenberg).

Maublanc et Lasnier, Sur une maladie des Cattleya. (Bulletin de la société mycologique de France. T. XX. 1904. p. 167—172. tab. 12.)

Auf Cattleya Mossia wurden in den Pariser Warenhäusern 2 Pilzschädlinge konstatiert, eine Pythium-Art und die neue Art Physalospora Cattleyae. Letztere wird genau beschrieben und abgebildet; das Konidienstadium gehört in die Gattung Gloeosporium.
 Matouschek (Reichenberg).

Zweite Abt. Bd. XIII.

50

Klebahn, H., Ueber eine im botanischen Garten zu Hannover aufgetretene Tulpenkrankheit. [Vortrag, gehalten im naturwiss. Verein Hamburg am 24. Juni 1903.] (Verhandlungen des naturwiss. Vereins in Hamburg. III. F. Bd. XI. 1903. p. 11. LXXII—LXXIII.)

Kurze Wiedergabe des Vortrages. Die in Holland bekannte, durch *Botrytis parasitica* erzeugte Krankheit zeigte sich Frühjahr 1903 auch im botanischen Garten zu Hannover. Ausführliches darüber in der Arbeit des Verf.: „Ueber die Botrytis-Krankheit“ (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. XIV. 1904. p. 18—36. Mit 1 Taf.)

Matouschek (Reichenberg).

Eckardt, C. H., Ueber die wichtigsten in neuerer Zeit aufgetretenen Krankheiten der Gurken. (Praktische Blätter für Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. Jahrg. II. Heft 8 u. 9.)

Der Bericht bietet eine Uebersicht über die neueren im In- und Auslande auf Freiland- sowie Treibgurken beobachteten Schädlinge und es wird zugleich auch auf die bekannten und bewährten Bekämpfungs- und Vorbeugungsmittel hingewiesen, welche in vielen Fällen sogar noch ertragsteigernd wirkten. Von pflanzlichen Feinden wird an erster Stelle der auf Früchten auftretende Schwärzepilz *Cladosporium cucumeris* Frank. erwähnt, der auch die ganze Ernte zu vernichten vermag. Auf Blättern trat verheerend eine *Sporidesmium*-Art auf und blieb auch hier, wie bei der vorher erwähnten Krankheit, die Anwendung der Bordeauxbrühe erfolglos. Bei einer durch eine *Alternaria*-Art verursachten, wahrscheinlich mit dem in Amerika beobachteten „Leaf Blight“ identischen Krankheit wird als Bekämpfungsmittel die Bespritzung mit Bordeauxbrühe und Untergraben von Gips empfohlen. Der echte Mehltau, verursacht durch *Sphaerotheca pannosa* Lér., wurde durch Schwefeln, Abschneiden und Verbrennen der befallenen Blätter als auch durch Anwendung von Gipslösungen bekämpft. Aus Amerika wurde des öfteren das verheerende Auftreten von *Plasmopara cubensis* Humphr. (recte *Pseudoperonospora cubensis* Rost.) gemeldet. Die durch diesen Pilz verursachten Krankheiten kamen in letzteren Jahren auch bei uns häufig vor. Als Gegenmittel wurde hier erfolgreich Bordeauxbrühe und Kupfersoda angewendet, wodurch auch die Anthraknose, verursacht durch *Colletotrichum lagenarium* Pass., von den Gurken ferne gehalten werden kann. Gute Erfahrungen liegen bezüglich letzterer Krankheit bei einer durchgeführten einstündigen Einweichung der Samen in eine ammoniakalische Kupferkarbonatlösung vor. Fernerhin wird das Auftreten von *Septoria cucurbitacearum* Sacc., *Gloeosporium* sp., *Sclerotinia Libertiana* Fuck., *Pythium de Baryanum* Hesse, *Fusarium niveum* und *Phyllosticta cucurbitacearum* Sacc., als auch näher nicht bezeichneten Bakterien mitgeteilt; auf letztere soll Stickstoffüberschuß disponierend wirken und wird als Gegenmittel Düngung mit Phosphorsäure oder Kainit angeraten. Die amerikanischen Treibhaus-

gurken wurden von *Cuscuta gronovii* Willd. geschädigt; fernerhin liegen Berichte auch über durch Rauchgase verursachten Schädigungen vor.

Von den tierischen Feinden wird an erster Stelle die rotköpfige Springwanze (*Halticus saltator* Geoffr.) erwähnt, die an mehreren Orten die Mistbeetkulturen arg schädigte; laut Bericht Prof. Thomas sollen die Frühbeete der Winterkälte ausgesetzt werden, die den Schädling tötet. Die in Amerika größere Schäden verursachende Wanze *Leptoglossus oppositus* Jay. kann durch Abklopfen der Pflanzen oder Bespritzungen mit Petrolseifenbrühe vermindert werden, gegen den ebendort häufig auftretenden Streifenkäfer (*Diabrotica vittata* Fab.) wird eine Bepflanzung der Gurkenkulturränder mit Melonenkürbissen empfohlen, wodurch die Käfer angelockt, sodann durch Kupferarsenik vernichtet werden können. Der Tausendfüßler *Blaniulus guttulatus* Gew. soll erfolgreich durch Auslegung von Kartoffel-, Zuckerrüben- oder Regenwurmköder zu bekämpfen sein. Die in trockenen Jahren häufiger auftretende rote Milbenspinne (*Tetranychus* sp.) wird laut Berichten durch mehrfaches Ueberbrausen, Schwefeln, Bestreuung mit Holzasche, hauptsächlich aber durch Bespritzung der Pflanzen mit warmen Seifenwasser zu vernichten sein. Gegen Blattläuse wirkte die Kochsche Lösung und Tabakseifenabsud am besten. Als Gegenmittel gegen die Schädigungen der Gurkennematoden wird entsprechender Fruchtwechsel und Düngung empfohlen. Gegen das lästige Bitterwerden der Gurken, wahrscheinlich durch große Trockenheit und Hitze verursacht, wird die Pflanzung zwischen Kohl- und Rübenreihen angeraten, da diese einen gehörigen Seitenschutz bieten. Frühes Abnehmen der Früchte ist ratsam. Ungünstige Temperaturschwankungen oder übermäßige Regemengen erwirken weniger spezielle Krankheitserscheinungen, bei längerer Dauer derselben können jedoch auch bestimmte Erkrankungen, wie z. B. Gummifluß, Verkümmern der Früchte u. s. w., auftreten. Vergleichende Versuche ergaben, daß übermäßige und falsche Düngung gerade bei Gurken krankheitsdisponierend wirkt.

Pósch (Grinád, Ungarn).

Hennings, P., *Myriangium mirabile* P. Henn. n. sp., sowie Bemerkungen über verschiedene andere Arten der Myriangiaceen. (Hedwigia. 1902. Beibl. p. 54.)

Verf. beschreibt die neue Art *Myriangium mirabile*, die in São Paulo auf den lebenden Blättern einer Lauracee gefunden wurde. Von den übrigen Vertretern der Gattung weicht diese Art durch die in der Blattsubstanz parasitierenden Stromata und durch das hellgelbliche, wachsartige Gehäuse ab, so daß eine neue Sektion *Myriangina* darauf begründet wird. Im Anschluß gibt Verf. dann einige Bemerkungen zu anderen Arten. *Ascomycetella quitensis* Pat. wird als *Henningsiella quitensis* Rehm zu den Ascocortiaceen gestellt. *Ascomycetella sulphurea* Wint. wird *Myriangiopsis sulph.* P. Henn. n. gen.

50*

A. sanguinea Speg. wird *M. (Uleomyces) sanguineum* P. Henn. Die von Hennings früher aufgestellte Gattung *Kusanoa* wird ebenfalls zu der Sektion *Uleomyces* gezogen, desgleichen auch *M. purpurascens* Rehm und *M. punctoideum* Rehm. *Phymatoshaeria calami* Rac. und *Ph. argentina* Speg. gehören ebenfalls zu *Myriangium*. Die von Zimmermann aufgestellte Gattung *Myriangella* zeigt große Uebereinstimmung mit *Mollerella* Wint. Lindau (Berlin).

Laubert, R., Eine wichtige *Gloeosporium*-Krankheit der Linden. (Sonderabdruck aus der „Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten“. Bd. XIV. 1904. Heft 5. Mit 1 Tafel.)

Die besprochene *Gloeosporium*-Krankheit erzeugt im Mai auf den Blättern von *Tilia parvifolia* runde, helle, trockene, dunkel umsäumte Flecke und befällt auch die Blattstiele und die jungen Zweige. Die Blätter, deren Stiele erkrankt sind, fallen sehr bald in noch grünem Zustande ab oder vertrocknen. Die Bäume werden bei starkem Befall bereits im Mai und Juni eines großen Teiles ihrer Blätter beraubt. Bemerkenswert sind die pathologisch-anatomischen Veränderungen der erkrankten Blattstiele und Zweige. Die Ursache der Krankheit ist das *Gloeosporium tiliae-colum* Allescher = *Gl. Tiliae maculicolum*, das sich von *Gloeosporium Tiliae* Oudem. artlich kaum, möglicherweise gar nicht unterscheidet. Schade, daß der Verleger die Reproduktion der zugehörigen Abbildungen nicht besser hat ausführen lassen. Laubert (Berlin).

Björkenheim, C. G., Beiträge zur Kenntnis des Pilzes in den Wurzelanschwellungen von *Alnus incana*. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1904. p. 129—133.)

Bei der Untersuchung von Weißerlenknöllchen fand Verf. im Rindenparenchym einzelner kleiner, dem Aussehen und anatomischen Bau nach junger Knöllchen einen Hyphenpilz von auffallend großen Dimensionen. Im Gegensatz zu den gewöhnlichen, nur 0,5—0,8 μ dicken und an ihren Enden zu Bläschen anschwellenden Hyphen der anderen Knöllchen waren die vorliegenden, mit einer deutlichen, doppelt konturierten Membran umgebenen und einzelne Querwände aufweisenden Hyphen 3,5—4 μ dick. Sie verzweigten sich reichlich und bildeten in der Mitte der Zellen vielfach große verwickelte Knäuel. Die ebengenannte auffallende Dicke aber besaßen sie nur in dem Teile des Rindenparenchyms, der dem Zentralcylinder am nächsten liegt; von hier nach außen zu wurden sie feiner und feiner (1,0—0,8 μ dick) und verwickelten sich mehr und mehr, so daß sie zuletzt nicht mehr als deutliche Hyphen zu unterscheiden waren. Von dem geschilderten Zusammenhang zwischen den dicken und feinen, schließlich bläschenbildenden Hyphen ausgehend hält Verf. die Knöllchen mit dicken Hyphen für das Stadium kurz nach der primären Infektion. Die infizierenden Hyphen sind etwa 4 μ dick, breiten sich im Rindenparenchym aus und werden in dem Maße wie die Knöllchen und mit diesen der Pilz wachsen, schmaler,

schließlich nur 0,5 μ dick und bilden Bläschen. Immer feiner geworden vermag der Pilz nun durch innere (sekundäre) Infektion neue Knöllchen zu erzeugen. Wie aus dem seltenen Vorkommen dicker Hyphen hervorgeht, scheinen die meisten Knöllchen nicht durch primäre, sondern durch sekundäre Infektion zu entstehen. Ueber die systematische Stellung des somit als Hyphenpilz unzweifelhaft gekennzeichneten Knöllchenenerregers der Erlen äußert sich Verf. nicht. Beck (Tharandt).

Chittenden, F. H., The principal injurious insects of 1903. (Yearbook of the United States Department of Agriculture 1903. Washington 1904. p. 563—566.)

Es werden in der Arbeit die im Jahre 1903 in den Vereinigten Staaten auf Nutzpflanzen aufgetretenen Insektenschäden, teils bei Erwähnung des Schädling selbst, teils nur durch Beschreibung des verursachten Schadens, angeführt. Der Aufzählung stehen die rationell durchgeführten und dem Department mitgeteilten Beobachtungen der einzelnen Staaten und Beobachter zu Grunde, wodurch aus derselben auch die geographische Verbreitung der durch Insekten verursachten Schäden ersichtlich ist. Es mag hier nur die Aufzählung der Schädlinge gegeben werden:

Rhagoletis pomonella Walsh., *Aphis Mali* et al., *Schizoneura lanigera* Hausm., *Heliothis armiger* Hbn., *Lasioderma serricorne* Fab., *Crioceris Asparagi* L., *Saperda tridentata* Ol., *Alabama argillacea* Hbn., *Chalcodermus aeneus* Boh., *Epitrix cucumeris* Harr., *Dendroctonus frontalis* Zimm., *Oberea ulmicola* Chttn., *Sciara inconstans* Fitch., *Tribolium ferrugineum et confusum*, *Nysius minutus*, *N. parallelus* et *N. angustatus*, *Scolytus rugulosus* Ratz., *Aramigus fulleri* Horn., *Loxostege similalis* Guen., *Nectarophora granaria* et al., *Eudemis botrana* Schiff., *Typhlocyba comes*, *Fidia viticida* Walsh., *Camnula pellucida*, *Melanoplus atlantis*, *Aulocara Elliotii*, *Murgantia histrionica* Hahn., *Phaedon aeruginosa* Suffr., *Ephestia Knehniella* Zell., *Anthonomus grandis* Boh., *Ithycerus noveboracensis* Forst., *Gryllotalpa borealis* Burn., *Balaminus proboscoideus* et *B. rectus*, *Mytilaspis pomorum* = *Lepidosaphes Ulmi*, *Aphis forbesi* Weed., *Aphis gossypii* Glov., *Psylla pyricola* Forst., *Acrobasis* sp., *Enarmonia* (*Grapholitha*) *caryana* Fitch., *Dimorphopterix pinguis* Nort., *Conotrachelus Crataegi* Walsh., *Papaipemanitela* Guen., *Lyctus* sp., *Tetranychus bimaculatus* Harv., *Neocerata rhodophaga* Cog., *Macroductylus subspinosus* Fab., *Pegomya Brassicae* Bouché, *P. cepetorum* Meade et *P. fusciceps* Zett., *Psila rosae* Fab., *Aspidiotus perniciosus* Comst., *Texoptera graminum* Rond., *Tyloderma fragariae* Ril., *Typophorus canellus*, *Graphops marcassitus* et *G. nebulosus*, *Anthonomus signatus* Say., *Cylas formicarius* Fab., *Thrips tabaci* Lind., *Dia-*

brotica 12 *punctata* Ol., *Aleurodes* sp., *Lachnosterna rugosa* et *hirticula*. Pósch (Grinád, Ungarn).

Schmidt, Richard, Tiroler Zoocecidien. Ein Beitrag zur Kenntnis ihrer geographischen Verbreitung. (Sitzungsberichte der naturforschenden Gesellschaft zu Leipzig. Jahrg. XXVII/XXIX. 1901—1902. Leipzig 1903. p. 47—57).

Eine Ergänzung der sehr sorgfältigen Zusammenstellungen von v. Dalla-Torre über dieses Thema, die in den Berichten des naturw.-mediz. Vereins in Innsbruck. Bd. XX (1892), Bd. XXI (1894), Bd. XXII (1896) publiziert worden sind. Verf. sammelte in der Umgebung von Bozen und auf der Seiser-Alp. Als Neuheiten für Tirol wurden angegeben:

I. Milbengallen: *Phyllerium Celtidis* auf *Celtis australis*, die Rindengalle auf *Cotoneaster integerrimus*, die Blätterschöpfe auf *Geranium sanguineum*, die Blattpocken auf *Sorbus torminalis* (erzeugt von *Eriophyes piri* Nal.), die als *Legnon crispum* bekannte Randrollung auf *Tilia ulmifolia* (erzeugt durch *Eriophyes tetratrichus* Nal., in Deutschland gemein), die Knospenwucherungen auf *Populus nigra* L. (erzeugt durch *Eriophyes populi* Nal.)

II. Hemipterocecidien: Triebspitzenformation des Perückenstrauches (verursacht durch *Calophya rhois* F. Löw.), die durch *Pemphigus nidificus* F. Löw. erzeugten Blätterschöpfe an *Fraxinus*, die Blattgallen des *Pemphigus follicularius* und *P. semilunarius* an *Pistacia terebinthus*, die des *P. vesicarius* an *Populus nigra* und die der *Tetraneura rubra* an *Ulmus campestris*.

III. Mückengallen: Die durch *Oligotrophus Pantanelli* Kieff. erzeugten, aus 3 (—4) Blattwirteln hervorgegangenen Kieckbeeren des *Juniperus communis*, die Blattrandrollung der *Macrodiplosis volvens* auf *Quercus pedunculata* Ehrh. und die flachen Blasengallen des *Oligotrochus Hartigi* auf Lindenblätter.

Im ganzen wies Verf. an 51 Pflanzenarten 41 Phytoptocecidien, 15 Dipterocecidien und 22 Hemipterocecidien nach.

Matouschek (Reichenberg).

Thomas, F., Altes und Neues über *Blaniulus guttulatus* Gerv. als Schädiger des Pflanzenbaues. (Naturw. Zeitschr. f. Land- u. Forstw. Jg. II. 1904. p. 287—292. 1 Abb.)

Der getupfte Tausendfüßler (*Blaniulus guttulatus*) war bisher als schädlich bekannt durch Befressen abgefallenen Obstes und hängender Erdbeeren, Zerstörung von Saatgut, Benagen von Wurzeln etc. Verf. beobachtete ihn außerdem, wie er die Stengel kräftig tragender Gurkenpflanzen durchbohrte und das Gewebe bis auf die stehengebliebenen Gefäßbündel zerstörte, so daß zahlreiche Pflanzen innerhalb von 2 bis 3 Tagen abstarben. Diese bisher unbekannte Ernährungsweise des Tausendfußes bringt Th. mit besonderen Witterungsverhältnissen in Zusammenhang, während deren Dauer jener keine andere ihm zusagende Nahrung findet.

Als Köder zum Wegfangen empfehlen sich zerschnittene Kartoffeln, besser noch Regenwürmer, die man durch Abbrühen tötet, mit feuchter Erde bedeckt und nach einigen Tagen samt den daran-sitzenden Iulus herausschaufelt, um letztere mit heißem Wasser zu töten. Da auch andere Tausendfüße als Pflanzenschädlinge auftreten, die zu unterscheiden für die Bekämpfungsweise von Einfluß ist, so gibt Verf. praktisch brauchbare Artkennzeichen von *B. guttulatus* an, unter Beigabe von Abbildungen der Gonopoden. Jacobi (Tharandt).

Uzel, H., Ueber Thysanopteren (Blasenfüße), besonders die Arten, welche in Böhmen auf der Zuckerrübe beobachtet worden sind. (Zeitschr. f. Zuckerindustrie in Böhmen. Jahrg. XXIX. 1904. p. 1.)

Verf. hat in der Literatur noch keine Bemerkungen über die Beziehungen der Thysanopteren zu der Zuckerrübe gefunden. Auf den Blättern der Zuckerrübe bemerkte er in geringer Anzahl die Arten: *Physopus atrata* Halid., *Thrips communis* Uzel, *Aelothrips fasciata* L. und *Dictyothrips betae* Uzel. Am bemerkenswertesten von diesen Arten ist *Thrips communis*, welche an vielen Kulturpflanzen vorkommt und durch das Aussaugen der Blätter zuweilen bedeutend schadet. Interessant ist die Art *Dictyothrips betae*, die Verf. bis jetzt nur in zwei Exemplaren (einem Männchen und einem Weibchen) auf von einander entfernten Orten gesammelt hat. Es hat sich die Notwendigkeit herausgestellt, für diese Art einen ganz neuen Gattungsnamen zu bilden, weil man sie in keiner der schon bekannten Gattungen unterbringen konnte. In den Blütenständen der Zuckerrüben kommen *Thrips communis* Uzel in großer Anzahl, *Physopus atrata* Halid., *Ph. vulgatissima* Halid. und *Aelothrips fasciata* L. in kleiner Anzahl vor. Die Art *Thrips communis* ist jedenfalls im stande, durch Aussaugen der Blütenstände die Samenbildung teilweise zu verhindern, aber auf der anderen Seite nützt sie vielleicht durch Uebertragung von Blütenstaub, welcher an ihren Beinen und besonders an den gefransten Flügeln haften bleibt. Verf. gibt weiter eine genaue Beschreibung der Gattungen und Arten derjenigen Thysanopteren, welche er bis jetzt auf der Zuckerrübe in Böhmen beobachtet hat, und muß diesbezüglich auf das Original verwiesen werden. Stift (Wien).

Hess, Der Haselnußbohrer (*Balaninus nucum* L.) (Forst-wissensch. Centralbl. XXVI. Jg. 1904. p. 427—429.)

Im Anschluß an eine 1891 gemachte Mitteilung gibt H. Reihen von Erfahrungszahlen, die sich auf das Auftreten des Nußstechers an einer bestimmten Stelle in den Jahren 1890 und 1902 beziehen; sie gaben Zahl der gesammelten Nüsse auf 1 kg, Verhältnis der unversehrten und angestochenen dazu, Prozentsatz der Auskriechstellen der Larven an der Spitze, am Nabel und an den Seiten etc., namentlich aber den Prozentsatz der Ernteschmälerung an. Dieser betrug in beiden Jahren genau das gleiche, nämlich ein Fünftel

der Gesamternte (21,5 Proz.). Hinsichtlich der Bekämpfung stellt H. fest, daß einmaliges Umgraben des Erdreichs zwischen den Büschen im Frühjahr und Vorsommer zur Vertilgung der bodenruhenden Stände des Insekts keinen Erfolg hatte, jährliches Wiederholen aber solchen erhoffen läßt. Abklopfen der Käfer auf Tücher läßt sich im großen nicht durchführen. Das sicherste Mittel besteht jedenfalls im Auflesen und Verbrennen der zu Boden gefallen angestochenen Nüsse, muß aber täglich ausgeführt werden, um den Larven keine Zeit zum Auskriechen zu lassen.

Jacobi (Tharandt).

Enderlein, G., Läusestudien. Ueber die Morphologie, Klassifikation und systematische Stellung der Anopluren nebst Bemerkungen zur Systematik der Insektenordnungen. (Zool. Anz. Bd. XXVIII. p. 121—147. 15 Fig.)

Der Bau der Mundteile bei den Läusen, den sogenannten Pediculiden, deren morphologische Zurückführung auf die typischen Insektenmundteile und damit die systematische Stellung jener Tiere waren bisher ungelöste Rätsel, die E.'s. sehr willkommene Untersuchung in allen wesentlichen Zügen löst. Vor allem stellt er fest, daß das bekannte, etwas vorstülpbare Rohr oder Rüsselscheide nur die Mundöffnung ist, und daß die daraus hervortretende innere „Röhre“ sich in Labium, Hypopharynx und Maxillen gliedert. Die Ursache, warum die Röhre von keinem Forscher genügend analysiert worden ist, liegt in ihrer großen Zartheit und in dem Umstande, daß sie eine für Insekten ganz außergewöhnliche Lage einnimmt: ihre Basalteile reichen nämlich meist bis in den Thorax hinein, ziehen sich auch häufig tief in ihn — bei *Trichaulus vituli* (L.) sogar bis in den vorderen Teil des Abdomens zurück. Die Bedeutung der einzelnen Teile des Stechrüssels wird vom Verf. unter Zurückführung auf die Bestandteile der Insektenkiefer auseinandergesetzt, ferner noch die Erhaltung echter Mandibeln außerhalb jenes Organverbandes an *Haematopinus* s. str. nachgewiesen, wobei es sehr interessant ist, daß die Vorderkiefer wie bei den Thysanopteren und Sandaliorrhynchen (*Coryxidae* olim) aus zwei Gliedern bestehen; E. möchte das Basalglied als Stipes, die eigentliche Mandibel aber, wie sie sich dort darbietet, als Lobus internus auffassen. Weiterhin berichtigt Verf. einige irrtümliche Ueberlieferungen über die Zusammensetzung des Abdomens und der Beine.

Auf Grund seiner Untersuchungsergebnisse gelangt E. auch zu neuen Anschauungen über die systematische Stellung der Läuse. Unter Verwerfung der Anschauungen von Chodkowski, Handlirsch und Börner hierüber stellt er zunächst fest, daß die Anoplura (Leach), wie die wissenschaftliche Bezeichnung der Läuse zu lauten hat, als wohlcharakterisierte Unterordnung der Rhynchota neben den Homoptera, Heteroptera, Sandaliorrhyncha (Börner) und Conorrhyncha (Börner) zu führen sind. Im Anschluß daran gibt er eine kurze Uebersicht und Bestimmungstabelle aller Anoplurengattungen und Beschreibungen von

vier neuen Gattungen und einer neuen Species. Die Unterordnung wird in die vier Familien Pediculidae, Haematopinidae, Echinophthiriidae und Haematomyzidae geteilt; die erste zerfällt noch in die Unterfamilien Pediculinae und Pedicininae, die zweite in die Haematopininae, Trichaulinae und Euhaematopininae.

In lockerem Zusammenhange mit dem eigentlichen Gegenstande des Aufsatzes stehen die angehängten „Bemerkungen zur Systematik der Insektenordnungen“, worin Verf. die älteren von Brauer für die Orthoptera und Hymenoptera begründeten Einteilungen und Benennungen gegen die neueren Abänderungen von Verhoeff bzw. Konow verteidigt und endlich die Annahme des Terminus Anoplura (Leach) gegen Siphunculata (Meinert) erklärt.
Jacobi (Tharandt).

Ludwig, F., Ueber merkwürdige Pilzmißbildungen. (43.—45. Jahresbericht der Gesellschaft von Freunden der Naturwissenschaften in Gera (Reuß). Gera 1903. p. 89—91.)

Der vom Verf. früher als Parasit des Panterschwammes beschriebene Polyporus agaricinicola und die Tremella mycetophila Perk., die als Schmarotzer der Collybia dryophila von Burt beschrieben wurde, sind nach neuen Untersuchungen des Verf. nur monströse Auswüchse der als Wirtspflanzen genannten Pilze. Es handelt sich hier um Formen von Mißbildungen, wie sie normal bei den Agaricineentypen Favolus, Leontodium, den Marasmien der Sektion Dictioploca etc. vorkommen und den Uebergang zu den echten Polyporeen bilden. Alle diese Pilze gehören zu den Basidiomyceten. Verf. erläutert an Beispielen auch die polyparoide Fruktifikation bei den Ascomyceten und bespricht noch Pilzmißbildungen von Lactarius-Arten über die Verf. ausführlicher schon in seiner Schrift: „Ueber durch Witterungseinflüsse bedingte teratologische Pilzformen“ geschrieben hat.
Matouschek (Reichenberg).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Viala, Pierre et Pacottet, P., Sur la culture du black rot. (Comptes rendus académ. des sciences. Paris 1904. Vol. CXXXVIII. p. 306—308.)

Die Kulturen lehrten, daß der Black-rot-Pilz [also Guignardia Bidwellii (Ell.) Viala et Ravaz] Vorliebe für saure Nährsubstrate hat. Es ist daher begreiflich, daß der Pilz ausschließlich gerade die jungen, säurereichen (1,75 Proz.) Blätter des Rebstockes befällt. Ebenso werden die Weinbeeren infiziert, so lange sie noch wenig Zucker und viel Säure enthalten. Charrinia diplodiella (Verursacher des Rotblanc) zeigt das entgegengesetzte Verhalten.
Matouschek (Reichenberg).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Eckstein, K., Die Technik des Forstschutzes gegen Tiere. Anleitung zur Ausführung von Vorbeugungs- und Vertilgungsmaßregeln in der Hand des Revierverwalters, Forstschutzbeamten und Privatwaldbesitzers. (Berlin, Paul Parey 1904. IV. 188 p. 52 Textabb. Geb. 4,50 M.)

Eine auf den Erfahrungen der Praxis fußende Zusammenstellung der Abwehr- und Vertilgungsmaßregeln gegen forstschädliche Tiere liefert Verf. mit dem ausgesprochenen Ziele, für die eigentliche, technische Ausführung jeder einzelnen Anleitung zu geben. Soweit die Kenntnis der wichtigsten Lebenserscheinungen zur Beurteilung eines Schadens nötig ist, wird sie nebst kurzer Kennzeichnung des Schädlings selber angegeben.

Die Vorbeugungs- und Vertilgungsmaßregeln stehen unter jeder Tierart, auf die sie Anwendung finden sollen, für sich, wobei neben Methode und Umfang die zur Ausführung passende Zeit betont wird, und auch die entstehenden Kosten, soweit angängig, genannt werden. Verf. will nur solche Verfahren anführen, deren Wirksamkeit ihm aus eigener Kenntnis als gesichert gilt, zwecklose dagegen unerwähnt lassen, obwohl Ref. dieser Grundsatz nicht überall durchgeführt erscheint (vergl. p. 51 über Sulfurit). Das Bestreben, den Bedürfnissen der Praxis gerecht zu werden, bekundet sich auch in den sehr zu begrüßenden Angaben von bewährten Bezugsquellen für Fanggerätschaften, Raupenleim, Chemikalien etc. nebst Durchschnittspreisen, sowie der Nebennutzungen, die sich aus den Kadavern von Schädlingen erzielen lassen. Die Gliederung des Stoffes ergibt sich aus den drei Abschnitten über die Bekämpfung forstschädlicher Wirbeltiere, Gliedertiere, nämlich Käfer, Wespen, Schmetterlinge, und — nicht ganz sinngemäß — von Forstschädlingen aus den übrigen Ordnungen der Insekten. Einen lehrreichen Anhang bilden Tabellen, wie sie zum Eintragen statistischer Nachweise über ausgeführte Bekämpfungsmaßregeln in der preußischen Forstverwaltung verwendet werden, zum Teil in von Eckstein verbesserter Form. Die Beigabe einer größeren Zahl vorzüglicher Originalabbildungen erhöht die praktische Bedeutung des vortrefflichen Buches, das berufen sein dürfte, den Revierverwaltungen ein vielbefragter und zuverlässiger Ratgeber zu werden. Natürlich wird man über Inhalt und Form in Einzelheiten von der Meinung des Verf. abweichen, wie sie dem Ref. z. B. beim Lesen an folgenden Punkten auffielen: das Eichhörnchen (p. 4) verbeißt, hierzulande wenigstens, auch sehr gern die Triebe der Kiefer. Vom Hasen (p. 18) werden auch die Heister der Roßkastanie gelegentlich in Mehrzahl benagt. In der Anweisung zum Vertilgen wilder Kaninchen durch Schwefelkohlenstoff (p. 22) vermißt man einen Hinweis, daß das Verfahren bei Schnee viel einfacher und kürzer ist als zu anderen Zeiten. Die Wirksamkeit des Leimens gegen *Pissodes piceae* und *harcyniae* (p. 65) konnte Verf. anscheinend noch nicht erproben. — Möge jede

weitere Auflage der „Technik des Forstschatzes“ Wert und Brauchbarkeit erhöhen!
Jacobi (Tharandt).

Lüstner, Bekämpfungsversuche gegen den Heu- und Sauerwurm. (Bericht der königl. Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. für das Etatsjahr 1903. p. 192—196.)

Es wurde ermittelt, daß durch starke Lichtquellen die Motten weniger angelockt werden als durch schwächere, und daß die Acetylenlampen mit Reflektor sich zum Ködern des Traubenwicklers nicht besser eignen wie die gewöhnlichen Oellampen. Von einer Verwendung der ersteren wird somit abgeraten.

Mit Horstyl wurden bei der Bekämpfung des Heuwurms gute Erfolge erzielt; trotzdem muß vorläufig von der Verwendung des Mittels im großen abgeraten werden, da die ölartige Masse sehr lange in den Gescheinen haften bleibt und es somit nicht ausgeschlossen ist, daß das Wurmgift beim Keltern der Trauben in den Most und später in den Wein gelangt und diesen ungünstig beeinflußt. Auch auf die Entwicklung der jungen Frucht hat das Mittel ungünstig eingewirkt. Ein endgültiges Urteil über dasselbe soll nächstes Jahr erfolgen.

Ueber das Bergersche Mittel kann nach den bis jetzt vorliegenden Erfahrungen noch kein sicheres Urteil abgegeben werden und wird dessen Verwendung derzeit der Praxis noch nicht empfohlen.

Schließlich wurde die von Gescher (Weinbau und Weinhandel. 1903. No. 1) empfohlene Bekämpfungsmethode, das Fangen der Raupen mittels Fallen erprobt. Die Raupen des einbindigen Wicklers (*Tortrix ambignella* Hüb.) verpuppen sich nur ganz vereinzelt unter den Tuchlappen, während sich diejenigen der bekreuzten Art (*Grapholitha botrana* W. V.) gerne dort einspinnen. Die Fallen sind also nur in denjenigen Weinbaugebieten wirksam, die unter letzterer Wicklerart zu leiden haben.

Pósch (Grinád).

Lüstner, G., Zur Bekämpfung des Springwurmwicklers. (Ber. der königl. Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. für das Etatsjahr 1903. p. 197.)

Bei der Durchführung der Bekämpfung des Springwurmwicklers (*Tortrix pilleriana* H.) durch Anwendung schwefeliger Säure zeigte sich, daß, wenn ca. 15 g einer Schwefelschnitte im Innern der bei dieser Bekämpfungsmethode benützten Blechglocken verbrannt werden und die hierbei entstehende schwefelige Säure 10 Minuten lang auf Stock und Pfahl einwirkt, die an diesen sitzenden Räupchen getötet werden.

Pósch (Grinád).

Bergner, Ein neues Schutzmittel gegen Rüsselkäfer. (Neue Forstl. Blätter. Jahrg. IV. 1904. p. 100—101.)

B. spricht den üblichen Bekämpfungsverfahren gegen *Hylobius abietis* (L.), als da sind: Ziehen von Fanggräben, Legen von Rinden, Fangkloben und Fangbüscheln, wesentlichen Nutzen

ab, unter Anführung der bedingenden Umstände. Statt dessen sollen die einzelnen Pflanzen durch ein Mittel vor dem empor-kriechenden Rüsselkäfer geschützt werden, nämlich durch eine umgelegte Hülse aus Zinkblech, die unten in die Erde gedrückt wird, oben durch eine umgebogene Krampe das Uebersteigen verhindert. Je nach der Bestimmung für 3-jährige Fichten oder 1—2-jährige Kiefern in zwei Größen angefertigt, soll diese Vorrichtung der Pflanzenentwicklung nicht Abbruch tun, vielmehr das Höhenwachstum fördern; über die Länge der hierüber gemachten Erfahrungen teilt Verf. nichts mit.

Der Verkauf dieser gesetzlich geschützten Hülsen ist der Firma Hörnle & Gabler in Zuffenhausen übertragen worden.
Jacobi (Tharandt).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Berner, O.**, On a vial for the culture of anaërobic bacteria on plates. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 3. p. 478—480. 1 Fig.)
Plehn, A., Schnellfärbung und Schnittfärbung nach Romanowski. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. VIII. 1904. Heft 11. p. 507—511.)
Zikes, Heinrich, Eine neue Methode zur Ueberführung von Desinfektionsmitteln gegenüber Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 15/16. p. 543—544.)
W., Beschreibung der Einrichtungen zur Sichtbarmachung ultramikroskopischer Teilchen. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 45. p. 705—711. 11 Fig.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

- Baccarini, P.**, Noterelle micologica. (N. Giorn. bot. Ital. N. Ser. Vol. XI. 1904. p. 416—422. 1 Taf.)
Barnard, F. G. A., A Fungus note. (Victoria Naturalist. Vol. XXI. 1904. p. 28.)
Brasil, Louis, Sur une Coccidie nouvelle, parasite d'un Cirratulien. (Compt. Rend. Acad. Sc. T. CXXXIX. 1904. N. 17. p. 645—646.)
Brocq-Rousseau, D., Sur un Streptothrix, cause de l'altération des avoines moisies. (Rev. gén. bot. Vol. XVI. 1904. p. 219—230. 1 Taf.)
Buchholz, Fr., Ueber die Boletus-Arten der Ostseeprovinzen Rußlands. (Korresp. Bl. d. Naturf. Ver. Riga. Jg. XLVII. 1904. p. 1—12.)
—, Bemerkung über das Vorkommen des Mutterkornes in den Ostseeprovinzen Rußlands. (Korresp. Bl. d. Naturf. Ver. Riga. Jg. XLVII. 1904. p. 57—64.)
Chraszcz, T., Zur Kenntnis des Hefewachstums in mineralischer Nährlösung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II, Bd. XIII. 1904. N. 5/7. p. 144—149.)
Düggeli, Max, Die Bakterienflora gesunder Samen und daraus gezogener Keimpflänzchen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 5/7. p. 198—207.)
Henneberg, W., Untersuchungen an ruhenden Kulturhefen im feuchten und abgepreßten Zustand. Ein Beitrag zur Kenntnis des Verhaltens, der Lebensdauer der Hefezellen, der Einwirkung fremder Organismen auf diese, sowie zur Kenntnis der spontanen Infektion, des Verderbens und der Fäulnis der Büchsenhefen. [Forts.] (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 41. p. 625—629; N. 45. p. 711—716; N. 46. p. 731—740; N. 47. p. 747—751.)
—, Abnorme Zellformen von Brennerhefen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 5/7. p. 150—153. 1 Taf.)
—, Abnorme Zellformen bei Kulturhefen. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. Jg. XVII. 1904. N. 44. p. 449—452. 11 Fig.; N. 45. p. 459—460.)
Iwanoff, K. S., Ueber die Wirkung einiger Metallsalze und einatomiger Alkohole

- auf die Entwicklung von Schimmelpilzen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 5/7. p. 139—144.)
- Laveran, A.**, Les Trypanosomes dans l'Ouest africain français. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXXXIX. 1904. N. 18. p. 658—662.)
- Léger, Louis**, Sur les hémoflagellés du *Cobitis barbatula* L. 1. *Trypanosoma barbatulae* n. sp. (Compt. rend. soc. biol. T. LVII. 1904. N. 30. p. 344—345.)
- , *Trypanosoma varium* n. sp., parasite du sang de *Cobitis barbatula* L. (Compt. rend. soc. biol. T. LVII. 1904. N. 30. p. 345—347.)
- Léger, L. et Duboscq, O.**, Nouvelles recherches sur les grégaires et l'épithélium intestinal des trachéates. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. IV. 1904. Heft 3. p. 335—383. 2 Taf. u. 11 Fig.)
- Macchiati, L.**, Note di biologia sul *Bacterium chlorometamorphicum* n. sp. (Bull. Soc. Bot. Ital. Firenze. 1904. p. 238—241.)
- Magnus, P.**, Einige geschuldete mykologische Mitteilungen. (Hedwigia. Bd. XLIV. 1904. Heft 1. p. 16—18. 1 Taf.)
- Milburn, Thomas**, Ueber Aenderungen der Farben bei Pilzen und Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 5/7. p. 129—138. 2 Taf. u. 6 Fig.)
- Rehm, H.**, Beiträge zur Pilzflora von Südamerika. 14. (Hedwigia. Bd. XLIV. 1904. Heft 1. p. 1—13. 1 Taf.)
- Saito, K.**, Eine neue Art der „Chinesischen Hefe“. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1904. N. 5/7. p. 153—161. 2 Taf.)
- Schiöning, H.**, Eine neue Art der Familie der Saccharomyceten. [Schluß.] (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 45. p. 717—720. 1 Fig.)

Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc).

- Boullanger, E.**, La nitrification. (Bull. de l'inst. Pasteur. Année II. 1904. N. 21. p. 841—847.)
- Green, A. B.**, A note on the action of radium on Micro-organisms. (Proc. R. Soc. London. T. LXXXIII. 1904. p. 375—381.)
- Grüss, J.**, Untersuchungen über die Atmung und Atmungsenzyme der Hefe. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 41. p. 721—724; N. 44. p. 769—772.)
- Henri, Victor**, Théorie générale de l'action des ferments solubles I. (Compt. rend. soc. biol. T. LVII. 1904. N. 31. p. 385—387.)
- Kostytschew, S.**, Untersuchungen über die Atmung und alkoholische Gärung der Mucoraceen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 16/17. p. 490—503.)
- Lindner, P.**, Die Prüfung der Hefe auf Homogenität. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 41. p. 621—622.)
- Mohr**, Die enzymatische Fettspaltung in der Praxis. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 46. p. 740—741.)
- , Ueber Agglutinationsvorgänge. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 45. p. 716—717.)
- Portier, P.**, Recherches sur la glycolyse des organes des mammifères. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVIII. 1904. N. 10. p. 633—643.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

- Zur Borsäurefrage. (Dtsche Nahrungsmittel-Rundsch. Jg. II. 1904. N. 21. p. 246—249.)

Luft, Wasser, Boden.

- Ashby, Sydney F.**, The comparative nitrifying power of soils. (Journ. of chem. Soc. T. LXXXV. 1904. p. 1158—1170.)
- Auscher, E. S.**, Moyens de rechercher l'origine de la contamination des eaux. (Ann. d'hyg. publ. et de méd. légale. Sér. 4. T. II. 1904. p. 289—297.)
- Deblon, A.**, Les eaux alimentaires de l'agglomération Bruxelloise. (Ann. d'hyg. Sér. 4. Teil II. 1904. p. 308—326.)
- Goslings, N.**, Ueber schwefelwasserstoffbildende Mikroben in Mineralwässern. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XIII. 1904. N. 13/14. p. 385—394.)
- Oehmcke, Th.**, Ueber den Wert reiner Zimmerluft und über die Lüftung der Woh-

nung. (Blätt. f. Volksgesundheitspflege. Jg. IV. Heft 20; Heft 21. p. 321—328. 1 Fig.)

Otto, Moritz und Neumann, R. O., Ueber einige bakteriologische Wasseruntersuchungen im Atlantischen Ozean. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 16/17. p. 481—489. 1 Fig.)

Milch, Molkerei.

Cao, Giuseppe, Ricerche sperimentali sulla sterilizzazione chimica del latte. (Riv. d'igiene e sanità pubbl. Anno XV. 1904. N. 21. p. 768—793.)

Freudenreich, Ed. v., Bakterien i Ko-Yvere. (Melkeritidende. Aarg. 17. 1904. N. 44. p. 784—788.)

—, Ueber die Bakterien im Kuheuter und ihre Verteilung in den verschiedenen Partien des Melkens. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 13/14. p. 407—427.)

Jensen, Orla, Studien über die flüchtigen Fettsäuren im Käse nebst Beiträgen zur Biologie der Käsefermente. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 5/7. p. 161—170; N. 13/14. p. 428—439; N. 15/16. p. 514—527.)

Popp, M., Die Einwirkung von Formalin auf Milch. (Molkerei-Ztg. Jg. XVIII. 1904. N. 46. p. 1102.)

Rodella, Antonio, Ueber die in der normalen Milch vorkommenden Anaerobien und ihre Beziehungen zum Käsebildungsprozesse. [5. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 16/17. p. 504—513.)

Bier, Brauerei.

Färnrohr, Oskar, Infektion durch Transportfässer. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 46. p. 813—815.)

Lindner, Algen an Berieselungskondensator. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 47. p. 752.)

Lintner, Vollmundigkeit und Schaumhaltigkeit des Bieres. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 45. p. 785—789.)

Schönfeld, F., Eine einfache Methode zur quantitativen Untersuchung der Brauereibetriebswürze auf Infektionsgehalt. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 41. p. 622—623.)

Zikes, H., Der derzeitige Stand der Biersarzinfrage. Mit besonderer Berücksichtigung der Aufsätze von N. Hjelt, Claussen, H. Will und R. Braun, F. Schönfeld. (Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrik. Jg. XXXII. 1904. N. 46. p. 557—560.)

Wein, Weinbereitung.

D., A. M., L'acide sulfureux dans les vins. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 85. p. 338; N. 88. p. 340—350.)

Delle, Ed., L'acide tartrique libre dans les vins. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 90. p. 358.)

Malvesin, Frantz, La Pasteurisation des vins nouveaux. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 89. p. 354.)

Martinand, V., Ueber Erwärmung der Weinmaische und über die Bedeutung von Schwefelverbindungen bei der Rotweinbereitung. (Weinlaube. Jg. XXXVI. 1904. N. 40. p. 510—512. 1 Fig.) (Revue de viticulture. Vol. XXII. N. 557.)

Plot, R., Le soutirage des vins blancs. (Moniteur vinicole. Année XLIX. N. 86. p. 341.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

Dzierzowski, S. K., Zur Frage von der biologischen Reinigung der Abwässer. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXV. 1904. N. 15/16. p. 465—467.)

Hamilton, G., Klärung von Molkereiabwässern. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. Jg. XVIII. 1904. N. 44. p. 1053—1054.)

Pammel, L. H. and Weems, J. B., An investigation of some Iowa sewage disposal systems. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 13/14. p. 395—407. 4 Fig.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

- Baltet, Ch.**, Les ennemis du pommier. (Ann. Soc. Hort. Hist. Nat. Hérault. Vol. XXXVI. Sér. 2. 1904. p. 63—68.)
- Barber, C. A.**, Diseases of Andropogon Sorghum in the Madras Presidency. (Dept. Land. Rec. Agric. Madras Bull. 2. 1904. p. 273—288.)
- Cruchet, D.**, Les cryptogames de l'Edelweiß. (Bull. soc. Vaudoise. Sér. 4. T. XL. 1904. p. 25—31.)
- Diseases of coniferous trees. (Journ. of the Board of Agric. Vol. XI. 1904. N. 8. p. 501.)
- Freckmann, W.**, Entwicklung und Bekämpfung des Klee Krebses *Sclerotinia trifoliorum*. (Dtische landw. Presse. Jg. XXXI. 1904. p. 452—453.)
- Harrison, A.** bacterial disease of cauliflower (*Brassica oleracea*) and allied plants. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 5/7. p. 185—198. 6 Taf.)
- Le Phylloxéra en 1903. (Journ. d'agric. Suisse. Année XXVI. 1904. N. 46. p. 385—386.)
- de Meyere, J. C. H.**, Een Sinaasappel-parasiet. (De Natuur XXIV. 1904. p. 146—148.)
- Müller-Thurgau, H.**, Ursache und Bekämpfung des roten Brenners der Reben. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXII. 1904. N. 40. p. 376—378.)
- Osterwalder, A.**, Ueber eine bisher unbekannte Art der Kernobstfäule, verursacht durch *Fusarium putrefaciens* nov. spec. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. N. 5/7. p. 207—213.)
- Powdery mildew of the vine. (Journ. of the Board of Agric. Vol. XI. 1904. N. 8. p. 497—498.)
- Semadeni, Franc. Ottavio**, Beiträge zur Kenntnis der Umbelliferen bewohnenden Puccinien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 5/7. p. 214—221; N. 13/14. p. 439—448; N. 15/16. p. 527—543. 5 Fig.)
- The Asparagus fly. (Journ. of the Board of Agric. Vol. XI. 1904. N. 8. p. 498—499. 1 Fig.)
- Tulip mite. (Journ. of the Board of Agric. Vol. XI. 1904. N. 8. p. 500.)

Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

- Muth, Frants**, Zur Bekämpfung des Heu- und Sauerwurms. (Hessische Landwirtsch. Ztschr. Jg. LXXIV. 1904. N. 37. p. 345—347.)
- Seufferheld, C.**, Erfahrungen über die neueren Mittel zur Bekämpfung des Heu- und Sauerwurmes. (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. XVI. 1904. N. 10. p. 149—156.)
- Ueber die Vernichtung des Wintereies der Phylloxera durch Lysol. (Weinlaube. Jg. XXXVI. 1904. N. 47. p. 593—594.)

Inhalt.

Referate.

- | | |
|---|---|
| <p>Arthur, J. C., Cultures of Uredineae in 1903, p. 780.</p> <p>—, New species of Uredineae, p. 781.</p> <p>Baar, Rudolf, Beitrag zur Kenntnis der Lebensweise des Myceliums von <i>Ustilago violacea</i> Pers., p. 783.</p> <p>Björkenheim, C. G., Beiträge zur Kenntnis des Pilzes in den Wurzelanschwellungen von <i>Alnus incana</i>, p. 788.</p> <p>Boden, Fr., Die Stockfäule der Fichte,</p> | <p>ihre Entstehung und Verhütung, p. 785.</p> <p>Bubák, Fr., In Böhmen im Jahre 1902 aufgetretene Pflanzenkrankheiten, p. 776.</p> <p>Chapman, Alfred, Ueber die Infektion mit wilden Hefen, p. 774.</p> <p>Chittenden, F. H., The principal injurious insects of 1903, p. 789.</p> <p>de Cordemoy, J., Sur les mycorhizes des racines latérales des Poivriers, p. 775.</p> |
|---|---|

- Davis, B. M.**, Tilletia in the capsule of bryophytes, p. 778.
- D'ippolito, G. e Traverso, G. B.**, La Sclerospora Sacc., parassita delle inflorescenze virescenti di Zea Mays, p. 778.
- , Sulla puntatura del frumento, p. 779.
- , Sul Cladosporium Pisi Cug. e Macch., p. 779.
- Eckardt, C. H.**, Ueber die wichtigsten in neuerer Zeit aufgetretenen Krankheiten der Gurken, p. 786.
- Enderlein, G.**, Läusestudien. Ueber die Morphologie, Klassifikation und systematische Stellung der Anopluren nebst Bemerkungen zur Systematik der Insektenordnungen, p. 792.
- Eriksson, J.**, Nouvelles recherches sur l'appareil végétatif de certaines Uredinées, p. 780.
- , Sur l'appareil végétatif de la rouille jaune des Céréales, p. 779.
- Griffiths, David**, Concerning some West American smuts, p. 782.
- Griesmayer**, Ueber das Vorkommen von Erepsin in der Bierhefe, p. 774.
- Hennings, P.**, Myriangium mirabile P. Henn. n. sp., sowie Bemerkungen über verschiedene andere Arten der Myriangiaceen, p. 787.
- Hess**, Der Haselnußbohrer (Balaninus nucum L.), p. 791.
- Klebahn, H.**, Ueber eine im botanischen Garten zu Hannover aufgetretene Tulpenkrankheit, p. 786.
- Kusano, Shunsuke**, Notes on Japanese fungi. I. Uredineae on Sophora, p. 782.
- Laubert, R.**, Eine wichtige Gloeosporiumkrankheit der Linden, p. 788.
- Lloyd, F. P.**, Bau des Gerstenkornes und Physiologie der Keimung, p. 774.
- Ludwig, F.**, Ueber merkwürdige Pilzmißbildungen, p. 793.
- Luft, G.**, Die Infektion im Gärkeller, p. 775.
- Magnus, P.**, Ein weiterer Beitrag zur Kenntnis der Gattung Uredinopsis, p. 783.
- Maublanc et Lasnier**, Sur une maladie des Cattleya, p. 785.
- Mikittinsky, Jacob**, Ueber die Beeinflussung der Entwicklung einiger Schimmelpilze durch ihre Stoffwechselprodukte, p. 773.
- Milesi e Traverso**, Saggio di una monografia del genere Triphragmium, p. 784.
- Oven, E. v.**, Ueber den Befall der verschiedenen Rosenarten durch Phragmidium subcorticium Schrank. in den Anlagen des königl. pomologischen Institutes zu Proskau, p. 784.
- Schmidt, Richard**, Tiroler Zooecidien. Ein Beitrag zur Kenntnis ihrer geographischen Verbreitung, p. 790.
- Smith, Erwin F.**, The effect of black rot on turnips, p. 778.
- Stevens, F. L.**, Studies in the fertilization of Phycomycetes: Sclerospora graminicola (Sacc.) Schroet., p. 769.
- Stoll, O.**, Beiträge zur morphologischen und biologischen Charakteristik von Penicillium-Arten, p. 770.
- Thomas, F.**, Altes und Neues über Blaniulus guttulatus Gerv. als Schädiger des Pflanzenbaues, p. 790.
- Uzel, H.**, Ueber Thysanopteren (Blasenfüße), besonders die Arten, welche in Böhmen auf der Zuckerrübe beobachtet worden sind, p. 791.
- Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.**
- Viala, Pierre et Pacottet, P.**, Sur la culture du black rot, p. 793.
- Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.**
- Bergner**, Ein neues Schutzmittel gegen Rüsselkäfer, p. 795.
- Eckstein, K.**, Die Technik des Forstschutzes gegen Tiere. Anleitung zur Ausführung von Vorbeugungs- und Vertilgungsmaßnahmen in der Hand des Revierverswalters, Forstschutzbeamten und Privatwaldbesitzers, p. 794.
- Lüstner**, Bekämpfungsversuche gegen den Heu- und Sauerwurm, p. 795.
- , Zur Bekämpfung des Springwurmwicklers, p. 795.
- Neue Litteratur**, p. 796.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof.
Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr.
Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W. 50, Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XIII. Band.

Jena, den 18. Januar 1905.

No. 26.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band XIII enthaltenen Arbeiten.

- | | | | |
|--|-----|--|-----|
| Aderhold, R., Ueber eine vermutlich zu <i>Monilia fructigena</i> Pers. gehörige <i>Sclerotinia</i> . | 465 | Baccarini, P., Sul <i>Ceratostoma Juniperinum</i> Ell. et Ever. | 661 |
| Aderhold, R. und Goethe, R., Der Krebs der Obstbäume und seine Behandlung. | 251 | Bartelletti, V., Sopra una particolare alterazione della corteccia di <i>Pterospermum platanifolium</i> . | 249 |
| Arthur, J. C., Cultures of <i>Uredinea</i> in 1903. | 781 | Baudisch, F., Notizen über <i>Septoria parasitica</i> R. H., <i>Fusoma Pini</i> R. H. und <i>Allescheria Laricis</i> R. H. | 474 |
| —, New species of <i>Uredineae</i> III. | 780 | Baudouin, M., Histologie et bactériologie des boues extraites à 10 m de profondeur d'un puits funéraire gallo-romain à la Nécropole du Bernard (Vendée). | 112 |
| Atkinson, Geo. F., The genus <i>Harpothyrium</i> in the United States. | 238 | Belcher, D. M. s. Winslow, C. E. A. | |
| Baar, Rudolf, Beitrag zur Kenntnis der Lebensweise des Myceliums von <i>Ustilago violacea</i> Pers. | 783 | | |

Zweite Abt. Bd. XIII.

51

- Bergner**, Ein neues Schutzmittel gegen Rüsselkäfer. 795
- Bernard, Noël**, Le champignon endophyte des Orchidées. 113
- Beythien, Hempel und Kraft**, Beiträge zur Kenntnis des Vorkommens von *Crenothrix polyspora* in Brunnenwässern. 106
- Björkenhelm, C. G.**, Beiträge z. Kenntnis des Pilzes in den Wurzelanschwellungen von *Alnus incana*. 788
- Blakeslee, A. F.**, Sexual reproduction in the Mucorineae. 570
- Blasdale, W. C.**, On a rust of the cultivated snapdragon. 423
- Boden, Fr.**, Die Stockfäule der Fichte, ihre Entstehung und Verhütung. 785
- Bohuslaw s. Rayman.**
- Bokorny, Th.**, Ueber die Ausgestaltung der Gärungstheorie bis zur Gegenwart. 565
- Bolle, Johann**, Ueber die im Jahre 1903 im Küstenlande beobachteten Pflanzenkrankheiten. 114
- Bordas**, Sur la maladie de la tache jaune des chênes-lièges. 366
- Braun, R. s. Will, H.**
- Brefeld, O.**, Neue Untersuchungen über die natürliche Infektion und Verbreitung der Brandkrankheiten des Getreides. 368
- Briem, H.**, Beobachtungen beim Fangen der Drahtwürmer. 251
- , Sichere Bekämpfung der Blattläuse. 252
- Brizi, V.**, Sulla Botrytis citricola n. sp. parassito degli agrumi. 470
- , Sulla malattia degli olivi denominata „brusca“. 470
- , Una malattia dell' endivia. 471
- Bubák, Fr.**, In Böhmen im Jahre 1902 aufgetretene Pflanzenkrankheiten. 776
- , Neue Krankheit der Zuckerrübe in Böhmen. 468
- , Versuche zur Vernichtung von Wurzelbrand der Zuckerrübe (*Rhizoctonia violacea* Tul.) im Erdboden 469
- Bünger v. s. Seelhorst.**
- Causemann**, Einiges zum Schlußartikel des Herrn Prof. Dr. Stutzer über die Nutzbarmachung des Luftstickstoffes. 457
- Černý, F. s. Stocklasa, Julius.**
- Chapman, Alfred**, Ueber die Infektion mit wilden Hefen. 774
- Chester, Frederick D.**, A review of the *Bacillus subtilis* group of bacteria. (Orig.) 737
- Chittenden, F. H.**, The principal injurious insects of 1903. 789
- Chrzaszcz, T.**, Zur Kenntnis des Hefewachstums in mineralischer Nährlösung. (Orig.) 144
- Cieslar, Adolf**, Waldbauliche Studien über die Lärche. 248
- Claussen, N. Hjelte**, Zur Sarcinafrage. 365
- Cohn, E. s. Heinze, B.**
- Conte, A. s. Vaney, C.**
- de Cordemoy, J.**, Sur les mycorhizes des racines latérales des Poivriers. 775
- Coupin, H. u. Friedel, S.**, Sur la biologie du *Sterigmatocystis versicolor*. 460
- Cruchet, P.**, Essais de culture des Urédinées sur Labiées. 95
- Cuboni, G. e Megilola, G.**, Sopra una malattia infesta alle culture dei funghi mangerecci. 461
- Dakin, H. D. s. Kossel, A.**
- Dangeard**, Nouvelles considérations sur reproduction sexuelle des champignons supérieurs. 455
- Dauphin**, Influence des rayons du radium sur le développement et la croissance des champignons inférieurs. 669
- Davis, B. M.**, Tilletia in the capsule of bryophytes. 778
- Delacroix, G.**, A propos de *Stromatinia Linhartiana* Prill. et Del. (*Sclerotinia Cydoniae* Schellenberg). 465
- , De la tavelure des Goyaves produite par le *Gloeosporium Psidii* n. sp. G. Del. 655
- , Rapport sur une maladie des asperges dans les environs de Pithiviers. 463
- , Sur l'identité réelle d. *Sphaeropsis Malorum* Peck. 464
- , Sur une altération des tubercules de pomme de terre dans la région avoisinante Paris pendant le mois de septembre 1903. 463
- , Sur un chancre du Pommier par le *Sphaeropsis Malorum* Peck. 463
- , Sur une forme conidienne du champignon du Black-rot (*Guignardia Bidwellii* Ellis Viala et Ravaz). [2^e communication] 654
- Delbrück, M.**, Fortschritte im Brauergewerbe. 364
- Denkschrift**, fünfundzwanzigste, betr. die Bekämpfung der Reblauskrankheit 1902 und 1903 (bis 1. Oktober). 115
- Desmots**, Production de l'acétylméthylcarbinol par les bactéries du groupe du *Bacillus mesentericus*. 229
- Diedicke, H.**, Die Aecidien der *Puccinia Stipae* (Op.) Hora. 113
- Dietel, Paul**, Ueber die auf Leguminosen lebenden Rostpilze und die

- Verwandtschaftsverhältnisse der Gattungen der Pucciniaceen. 242
- Dietel, Paul**, Bemerkungen über die Uredineengattung *Zaghoulania* Pat. 241
- , Ueber die Teleutosporenform von *Uredo laeviuscula* D. et H. und über *Melampsora Fagi* D. et Neg. 242
- Düggeli, Max**, Die Bakterienflora gesunder Samen und daraus gezogener Keimpflänzchen. (Forts. u. Schluß.) (*Orig.*) 56. 198
- Eckardt, C. H.**, Ueber die wichtigsten in neuerer Zeit aufgetretenen Krankheiten der Gurken. 786
- Eckhardt, H.**, Ueber die bakteriologischen Vorgänge im Bracheboden. 363
- Eckstein, K.**, Der Riesenbastkäfer *Hylesinus* (*Dendroctonus*) *micans* Kug. 475
- , Die Technik des Forstschatzes gegen Tiere. Anleitung zur Ausführung von Vorbeugungs- und Vertilgungsmaßnahmen in der Hand des Revierverwalters, Forstschutzbeamten und Privatwaldbesitzers. 794
- Eggers**, Die Borkenkäfer des Großherzogtums Hessen. 250
- Ehrenberg, Paul**, Die bakterielle Bodenuntersuchung in ihrer Bedeutung für die Feststellung der Bodenfruchtbarkeit. 555
- Enderlein, G.**, Ein neuer Copeognathentypus, zugleich ein neuer deutscher Wohnungsschädling. 666
- , Läusestudien. Ueber die Morphologie, Klassifikation und systematische Stellung der Anopluren nebst Bemerkungen zur Systematik der Insektenordnungen. 792
- , *Nymphopsocus destructor* Enderl. 1903, ein neuer Copeognathentypus, zugleich ein neuer deutscher Wohnungsschädling. 667
- , *Pthirocoris*, eine neue zu den Hemiccephaliden gehörige Rhynchotengattung von den Crozetinseln und *Sphigmocephalus* nov. gen. 5. Beitrag zur Kenntnis antarktischer Landarthropoden. 667
- Eriksson, J.**, Nouvelles recherches sur l'appareil végétatif de certaines Uredinées. 779
- , Sur l'appareil végétatif de la rouille jaune des Céréales. 780
- Eriksson, J. und Tischler, G.**, *Puccinia glumarum* (Schm.) Eriks. u. Henn. in der heranwachsenden Weizenpflanze. 371
- Fascetti, G.**, Esperienze sulla fabbricazione del formaggio con latte pastorizzato. 109
- Fascetti, G.**, Sopra l'impiego delle culture liquide dei fermenti lattici nell'acidificazione della crema. 109
- Fischer Ed.**, Fortsetzung der Entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen über Rostpilze. 653
- Freckmann s. v. Seelhorst.**
- Freckmann, W.**, Entwicklung und Bekämpfung des Kleekrebes (*Sclerotinia trifoliorum*). 670
- Freeman, Eduard, Monroe**, The seed-fungus of *Lolium temulentum* L., the Darnel. 657
- v. Freudenreich, Ed.**, Das bakteriologische Laboratorium der schweizerischen landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsanstalten auf dem Liebefeld bei Bern. (*Orig.*) 631
- , Ueber die Bakterien im Kuheuter und ihre Verteilung in den verschiedenen Parteien des Melkens. (*Orig.*) 281. 407
- Friedel, S. s. Coupin, H.**
- Fritsch, E. F.**, Two fungi parasitic on species of *Tolypothrix* [*Reticularia nodosa* Dang. and *R. Boodlei* n. sp.]. 235
- Fuchs, Gilbert**, Die Borkenkäferfauna der bayerischen Hochebene und des Gebirges. 250
- Fuchs, G.**, Etwas über primäre Borkenkäferangriffe. 666
- Godlewski, E.**, Vergärung von Zucker durch Pflanzensamen. 562
- Goethe, R. s. Aderhold, R.**
- Goethe, Rudolf**, Ueber den Krebs der Obstbäume. 662
- Gordan, Bakteriologische Untersuchungen zur Beurteilung von Kleien nach ihrer Neigung zur Schimmelbildung (Keimkastenmethode).** 561
- Gordan, P.**, Eignet sich Wasserstoff-superoxyd zum Sterilisieren der Milch? (*Orig.*) 716
- , Ueber Mäusevertilgungsversuche mit dem Löfflerschen Mäusetyphusbacillus u. mit baryumkarbonathaltigem Brot. 378
- Gorham, F. G.**, Die lichterzeugenden Bakterien. (*Orig.*) 227
- Goslings, N.**, Ueber schwefelwasserstoffbildende Mikroben in Mineralwässern. (*Orig.*) 385
- Griesmayer**, Ueber das Vorkommen von Erepsin in der Bierhefe. 774
- , Ueber verschiedene Hefenenzyme. 647
- Griffiths, David**, Concerning some West American smuts. 782

- Guilliermond, A.**, Sur le noyau de la levure. 646
- Guttmann, A.**, Praktische Erfahrungen über das Auftreten des Wurzelbrandes der Rüben. 660
- Harden, A. und Young, W. J.**, Gärversuche mit Preßsaft aus obergäriger Hefe. 108
- Harrison, F. C.**, A bacterial disease of cauliflower (*Brassica oleracea*) and allied plants. (*Orig.*) 46. 185
- Hausmann, Walther**, Zur Kenntnis des biologischen Arsennachweises. 122
- Hecke, Ludwig**, Ein innerer Krankheitskeim des Flugbrandes im Getreidekorn. 462
- , Ueber das Auftreten von *Plasmodium cubensis* in Oesterreich. 658
- Heinze, B. und Cohn, E.**, Ueber milchzuckervergärende Sproßpilze. 231.
- Hempel s. Beythien.**
- Henneberg, W.**, Abnorme Zellformen von Brennerhefen. (*Orig.*) 150
- , Lebensdauer einiger Kulturheferassen (*Frohberg, Saaz, Rasse II und Rasse XII*) im feuchten Zustande bei niedrigen Wärmegraden, und Einfluß verschiedener Organismen auf diese Hefen. (*Orig.*) 641
- , Studien über das Verhalten einiger Kulturheferassen bei verschiedenen Temperaturen. Ein Beitrag zur Enzymtätigkeit, zur Lebensdauer, Haltbarkeit und zum Absterben der Hefen. 97
- Hennings, P.**, *Myriangium mirabile* P. Henn. n. sp., sowie Bemerkungen über verschiedene andere Arten der *Myriangiaceen*. 787
- Hess, Der Haselnußbohrer** (*Balaninus nucum* L.). 791
- Hillmann, Die Verwendung von Streupulvern zur Bekämpfung des Hederrichs** im Vergleich zu der Bespritzung mit Salzlösung. 574
- Hoffmann, Ein neues Klärverfahren für städtische Abwässer mit gleichzeitiger Fettgewinnung.** 571
- Hofstädter, Erich**, Ein neuer Apparat zur Ansammlung von Gärungsgasen. (*Orig.*) 765
- Hollrung, M.**, Bericht der Versuchstation für Pflanzenkrankheiten in Halle a. S. über die während des Jahres 1903 in Mittelddeutschland beobachteten Krankheiten der Zuckerrüben. 467
- Houard, C.**, Caractères morphologiques des *Acrocécidies caulinares*. 121
- Jalowetz, E.**, Streifzüge durch das Gebiet der Gärungsindustrie. 107
- Jellinek, Joh. s. Stoklasa, Julius.**
- Jensen, Orla**, Studien über die flüchtigen Fettsäuren im Käse nebst Beiträgen zur Biologie der Käsefermente. (*Orig.*) 161. 291. 428. 514. 604. 687. 753.
- Jordi, E.**, Weitere Untersuchungen über *Uromyces Pisi* (Pers.). 64
- D'Ippolito, G.**, Sul *Cladosporium Pisi* Cug. et Macch. 779
- , Sulla puntatura del frumento. 778
- e **Traverso, G. B.**, La *Sclerospora* Sacc., parassita delle infiorescenze virescenti di *Zea Mays*. 778
- Istvánffy, Gy.**, Két új szőlőkárosító hazánkban. [Zwei neue Rebenschädlinge in Ungarn.] 471
- Iwanoff, K. S.**, Ueber die Wirkung einiger Metallsalze und einatomiger Alkohole auf die Entwicklung von Schimmelpilzen. (*Orig.*) 139
- , Ueber *Trichothecium roseum* Link als Ursache der Bitterfäule von Früchten. 664
- Keutner**, Ueber das Vorkommen und die Verbreitung stickstoffbindender Bakterien im Meere. 554
- Kieffer, J. J.**, Monographie des *Cynipides d'Europe et d'Algérie*. 121
- Kindshoven, J.**, Bespritzungsversuche bei Obstbäumen mit Kupferkalk- und mit Kupfersodabrühe. 670
- Kindt, Ludwig**, Die Kultur des Kakao-baumes und seine Schädlinge. 250
- Kirchner, O.**, Eine Milbenkrankheit des Hafers. 373
- Klebhahn, H.**, Ueber eine im botanischen Garten zu Hannover aufgetretene Tulpenkrankheit. 786
- Klöcker, A.**, Une espèce nouvelle de *Saccharomyces*, *Sacch. Saturnus* Klöcker, ayant des spores caractéristiques. 107
- Koch, Alfred**, Bodenbakterien und Stickstofffrage. 110
- , Bodenbakteriologische Forschungen und ihre praktische Bedeutung. 556
- , Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen. 105
- Koning, C. J. s. Oudemans, C. A. J. A.**
- Koning, C. J.**, Bijdrage tot de kennis van het leven der humicole fungi en van de scheikundige processen welke by de humificatie plaats hebben. 234
- Kornauth, Karl**, Ueber im Jahre 1903 beobachtete Pflanzenkrankheiten. 461

- Kossel, A. und Dakin, H. D.**, Ueber die Arginase. 230
- Kossowicz, Alex.**, Beobachtungen über die Farbstoffbildung einiger Bakterien in gezuckerten Mineralsalz-Nährlösungen. 105
- Kostytschew, S.**, Untersuchungen über die Atmung und alkoholische Gärung der Mucoraceen. (*Orig.*) 490. 577
- Kraft s. Beythien.**
- Krasnosselsky, T.**, Atmung und Gärung der Schimmelpilze in Rollkulturen. (*Orig.*) 673
- Krause, P.**, Untersuchungen einiger Dauerhefepreparate des Handels, mit besonderer Berücksichtigung ihrer biologischen Eigenschaften und therapeutischen Verwertbarkeit. 233
- Kruls, Karel s. Rayman.**
- Kuntze, W.**, Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien. (*Orig.*) 1
- Kusano, Shunsuke**, Notes on Japanese fungi. I. Uredineae on Sophora. 782
- v. Lagerhelm, G.**, Om af svamp angripna fikon och dadlar. 466
- Lasnier s. Maublanc.**
- Laubert, R.**, Beitrag zur Kenntnis des Gloeosporium der roten Johannisbeere. 82
- , Die Rotpustelkrankheit (*Nectria cinnabarina*) der Bäume und ihre Bekämpfung. 671
- , Eine auffallende Mißbildung der Getreidehalme. 665
- , Eine neue, sehr verbreitete Blattfleckenkrankheit von *Ribes alpinum*. 249
- , Eine wichtige Gloeosporiumkrankheit der Linden. 788
- Lepeschkin, W. W.**, Zur Kenntnis der Erbllichkeit bei den einzelligen Organismen. — Die Verzweigung und Mycelbildung bei einer Bakterie (*Bacillus Berestnewi* n. sp. [Schluß]) (*Orig.*) 13
- Leschtsch, Marie**, Gärung und Atmung verschiedener Hefearten in Rollkulturen [Schluß.] (*Orig.*) 22
- Lewin, D. s. Wender, N.**
- Lindau, G.**, Hilfsbuch für das Sammeln und Präparieren der niederen Kryptogamen, mit besonderer Berücksichtigung der Verhältnisse in den Tropen. 668
- Lindner, P.**, Der Nachweis von Bierhefe in Preßhefe mittels der biologischen Analyse und die Einführung eines bestimmten Hefentypus in die Preßhefabrikation. (*Orig.*) 355
- , Die Bedeutung der Feststellung des Infektionsquotienten gärender Flüssigkeiten unmittelbar nach der Probenentnahme. (*Orig.*) 354
- Lindner, P.**, Zur Einführung von Preßhefen vom sparrigen Typus. (*Orig.*) 355
- Linhart, G.**, Die Peronospora-, recte Pseudoperonospora-Krankheit der Melonen und Gurken in Ungarn. 466
- Lintner, J. C.**, Ueber den Maischprozeß. 363
- Lloyd, F. E.**, Bau des Gerstenkornes und Physiologie der Keimung. 774
- Löhns, F.**, Ueber Nitrifikation und Denitrifikation in der Ackererde. (*Orig.*) 706
- Loew, Oskar**, Ueber den Zusammenhang zwischen Labilität und Aktivität bei den Enzymen. 563
- Ludwig, F.**, Ueber merkwürdige Pilzmißbildungen. 793
- Lüstner, Bekämpfungsversuche gegen den Heu- und Sauerwurm. 795**
- Lüstner, G.**, Zur Bekämpfung des Springwurmwüchlers. 795
- Luff, G.**, Ueber Ursache und Verhütung der Infektion in der Würze- und Bierleitung. 365
- Luft, G.**, Die Infektion im Gärkeller. 775
- Magnus, P.**, Ein weiterer Beitrag zur Kenntnis der Gattung *Uredinopsis*. 783
- Maire, R.**, Recherches cytologiques sur le *Galactinia succosa*. 236
- , Remarques taxonomiques et cytologiques sur le *Botryosporium pulchellum*. 237
- , Sur l'existence des corps gras dans les noyaux végétaux. 646
- Malkoff, C.**, Die Cicade *Tettigonia viridis* L. als Schädiger der Obstbäume in Bulgarien. 474
- Matruchot, L. et Molliard, M.**, Sur le *Phytophthora infestans*. 239
- Maublanc et Lasnier**, Sur une maladie des *Cattleya*. 785
- Mc Alpine, Daniel**, Take-all and whiteheads in wheat. 373
- Megllola, G. s. Cuboni, G.**
- Meissner, Richard**, Die Obstweinbereitung. 106
- Metcalf, Haven**, *Bacterium teutlium* sp. nov. (*Orig.*) 28
- Meyer, A.**, Orientierende Untersuchungen über Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volutins. 569
- Mieko, K.**, Untersuchung von Fleisch-, Hefen- und anderen Extrakten auf Xanthinkörper. 2. Die Xanthinkörper der Hefenextrakte. 233

- Mikitinsky, Jacob**, Ueber die Beeinflussung der Entwicklung einiger Schimmelpilze durch ihre Stoffwechselprodukte. 773
- Milburn, Thomas**, Ueber Aenderungen der Farben bei Pilzen und Bakterien. (*Orig.*) 129. 257
- Milesi e Traverso**, Saggio di una monografia del genere *Triphragmium*. 784
- Möller, A.**, Die wahre Ursache der angeblich durch elektrische Ausgleichungen hervorgerufenen Gipfeldürre der Fichten. II. 660
- Mokrzecki, S. A.**, Ueber die innere Therapie der Pflanzen. 250
- Mollsch, H.**, Leuchtende Pflanzen. 356
- Mollard, M. s. Matruchot, L.**
- Moritz und Scherpe**, Ueber die Bodenbehandlung mit Schwefelkohlenstoff und ihre Einwirkung auf das Pflanzenwachstum. 573
- Nakayama, M.**, Ueber das Erepsin. 231
- Neumann, R. O. s. Otto, Moritz.**
- Nilson, A. s. Wahl, R.**
- Nilson, A.**, Wodurch wird das unlösliche Eiweiß in Gerste und Malz während des Wachsens und Maischens löslich gemacht? 112
- Nobbe F. und Richter, L.**, Ueber den Einfluß des im Kulturboden vorhandenen assimilierbaren Stickstoffs auf die Aktion der Knöllchenbakterien. 559
- , Ueber die Nachwirkung einer Bodenimpfung zu Schmetterlingsblütlern auf andere Kulturgewächse. 457
- Orton, W. A.**, Plant diseases in 1903. 655
- Osterwalder, A.**, Ueber eine bisher unbekannte Art der Kernobstfäule, verursacht durch *Fusarium putrefaciens* nov. spec. (*Orig.*) 207 330
- Otto, Moritz und Neumann, R. O.**, Ueber einige bakteriologische Wasseruntersuchungen im Atlantischen Ozean. (*Orig.*) 481
- Oudemans, C. A. J. A. and Koning, C. J.**, On a *Sclerotinia* hitherto unknown and injurious of the cultivation of Tobacco (*Sclerotinia Nicotianae* Oud. et Kon.). 662
- Oven, E. v.**, Ueber den Befall der verschiedenen Rosenarten durch *Phragmidium subcorticium* Schrank in den Anlagen des königl. pomologischen Instituts zu Proskau, O.-S. 784
- Pacottet, P. s. Viala.**
- Palladin, W. J.**, Die Leistungen der Fermente in lebenden und in abgetöteten Hefen. (*Orig.*) 353
- Pammel, L. H. and Weems, J. B.**, An investigation of some Iowa sewage disposal systems. (*Orig.*) 395
- Peglion, V.**, La nebbia (early blight) delle patate, *Alternaria Solani*. 239
- Perkins, R. C. L.**, The leaf-hopper of the sugarcane. 374
- Petersen, H. E.**, Note sur les Phycomycètes observés dans les téguments vides des nymphes de Phryganées, avec description de trois espèces nouvelles de Chytridinées. 236
- Petri, L.**, La formazione delle spore in *Naucoria nana* n. sp. 240
- , Ricerche sul significato morfologico e fisiologico dei prosperoidi (sporangiole die Janse) nelle micorrize endotrofiche. 240
- Pfeiffer, Th.**, Stickstoffsammelnde Bakterien, Brache und Raubbau. 650
- Pfister, F. R.**, Ursachen der Betriebsinfektion im Lüftungsverfahren und Mittel zu deren Verhütung. 647
- Pierre s. Viala.**
- Plettke, Fr.**, Ueber das massenhafte Auftreten einer *Simulia* in Nordwestdeutschland. 375
- Pösch, Karl**, Die pilzparasitären Krankheiten ungarischer Kulturpflanzen (*Fungi parasitici exiccati plantarum culturarum Hungariae*). 656
- Prior**, Die Bedeutung der gärungsphysiologischen Forschung für die Praxis. 363
- , Ueber neuere Maischverfahren. 363
- Rayman, Bohuslaw et Kruijs, Karel**, Des noyaux des bactéries. 645
- Remy**, Der gegenwärtige Stand und die künftigen Aufgaben der Bodenbakteriologie. 359
- Richter, L. s. Nobbe, F.**
- Robin, A.**, Ein Versuch zur Erzielung gleichmäßig zusammengesetzter Nährstoffe für Medien. (*Orig.*) 228
- Rodella, Antonio**, Ueber die in der normalen Milch vorkommenden Anaerobien und ihre Beziehungen zum Käseereifungsprozesse. (5. Mitt.) (*Orig.*) 504. 589
- Rose, Otto**, Der Flugbrand der Sommergetreidesaaten und Maßnahmen zur Bekämpfung dieses Pilzes in der landwirtschaftlichen Praxis. 243
- Saccardo, P. A.**, De diagnostica et nomenclatura mycologica admonita quaedam. 652

- Salto, K.**, Eine neue Art der „Chinesischen Hefe“. (*Orig.*) 153
- Salfeld**, Bodenimpfung bei der Hochmoorkultur. 111
- Salmon, Ernest, S.**, Cultural experiments with „Biologic Forms“ of the Erysiphaceae. [Kulturversuche mit biologischen Formen der Erysiphaceen.] 246
- , Cultural experiments with the Barley mildew, Erysiphe graminis DC. 247
- , On specialisation of parasitism in the Erysiphaceae. 245
- , Ueber die zunehmende Ausbreitung des amerikanischen Stachelbeer-Mehltaus. (Sphaerotheca mors uvae [Schwein.] Berk. et Curt.) in Europa. 245
- Sawin, L. R.**, Ueber eine neue Art und Weise, um Gärungsröhren aufzubewahren. (*Orig.*) 225
- Schellenberg, D. H. C.**, Der Blasenrost der Arve. 659
- Scherpe s. Moritz.**
- Schidrowitz, Ph.**, Die Bestimmung der proteolytischen Kraft des Malzes. 375
- Schönning, H.**, Nouveau genre de la famille des Saccharomycètes. 107
- Schmidt, Richard**, Tiroler Zoocecidien. Ein Beitrag zur Kenntnis ihrer geographischen Verbreitung. 790
- Schneider, Otto**, Versuche mit schweizerischen Weidenmelampsoren. (Vorläufige Mitteilung.) 222
- Schöne, Albert**, Die Mikroorganismen in den Säften der Zuckerfabriken. 648
- v. Seelhorst, Freckmann und Bünger**, Untersuchungen über den Einfluß der Feuchtigkeit des Bodens auf das Wachstum, den Wasserverbrauch und die Stickstoffsammlung verschiedener Lupinenarten. 558
- Semadini, Franc. Ottavio**, Beiträge zur Kenntnis der Umbelliferen bewohnenden Puccinien. (*Orig.*) 73. 214. 338. 439. 527
- Sestini**, Bildung von salpetriger Säure und Nitrifikation als chemischer Prozeß im Kulturboden. 559
- Severin, S. A.**, Die im Miste vorkommenden Bakterien und deren physiologische Rolle bei der Zersetzung desselben. (5. Mitt.) (*Orig.*) 616
- Shibata, K.**, Ueber das Vorkommen von Amide spaltenden Enzymen bei Pilzen. 230
- Smith, Erwin, F.**, The effect of black rot on turnips. 778
- Smith, Erwin F.**, Ursache der Cobb-schen Krankheit des Zuckerrohrs. (*Orig.*) 729
- Stebbing, E. P.**, Departmental notes on insects that affect forestry. 664
- Stevens, F. L.**, Studies in the fertilization of Phycomycetes: Sclerospora graminicola (Sacc.) Schroet. 769
- Stift, A.**, Ueber das Auftreten des Spaltpilzes Crenothrix polyspora im Luftpumpenwasser einer Zuckerfabrik. 648
- Störmer, K.**, Peritelus griseus Oliv., ein neuer Schädling am Hopfen aus der Familie der Rüsselkäfer. 474
- , Ueber die Wasserröste des Flachses. (*Orig.*) 35. 171. 306
- , Ueber eigentümliche, durch gleichzeitiges Auftreten der Radenkorn- und Federbuschkrankheit verursachte Mißbildungen beim Spelz. 372
- Stoklasa, Julius, Černý, F., Jelfnek, Joh. und Vitek, Eugen**, Ueber die Isolierung der gärungserregenden Enzyme aus dem Pflanzenorganismus. 86
- Stoll, O.**, Beiträge zur morphologischen und biologischen Charakteristik von Penicillium-Arten. 770
- Stutzer**, Die Nutzbarmachung des Stickstoffs der Luft für die Pflanzen. 455
- Sugg, E. s. Waele, H. de.**
- Sydow, H. u. P.**, Neue und kritische Uredineen. 653
- Sydow, H. u. P.**, Asteroconium Saccardoi Syd. nov. gen. et spec. 654
- , Urophlyctis hemisphaerica (Speg.) Sydow. 654
- Sydow, P. s. Sydow, H.**
- Telchert**, Bakteriologisch-chemische Studien über die Butter in der Provinz Posen, mit besonderer Berücksichtigung der Tuberkelbacillen. 560
- Thaxter, Roland**, New or peculiar North American Hyphomycetes. III. 236
- Thiele, R.**, Die Vorgänge bei der Zersetzung und Gerinnung der Milch. 234
- Thomas, F.**, Altes und Neues über Blaniulus guttulatus Gerv. als Schädiger des Pflanzenbaues. 790
- Tischler, G. s. Eriksson, J.**
- Traverso, G. B. s. D'Ippolito, G.**
- Traverso s. Milesi.**
- Trübennbach**, Zur Vertilgung der Quecke. 575
- v. Tubeuf**, Die Blattfleckenkrankheit der Kartoffel (Early blight oder Leaf-spot-disease) in Amerika. 641

- Tuzson, Johann**, Anatomische und mykologische Untersuchungen über den falschen Kern und die Zersetzung des Rotbuchenholzes. 366
- Uzel, H.**, Ueber Thysanopteren (Blasenfüße), besonders die Arten, welche in Böhmen auf der Zuckerrübe beobachtet worden sind. 791
- Uyeda, Y.**, On the Tobacco Wilt Disease caused by a Bacteria. (Preliminary Notice.) (*Orig.*) 327
- Vandervelde, A. J. J. s. Waele, H. de.**
- Vaney, C. et Conte, A.**, Utilisation des champignons entomophages pour la destruction des larves d'Altises. 251
- Vanselow, Karl**, Polyporus-Schaden an Zwetschenbäumen. 664
- Viala, Pierre et Pacottet, P.**, Sur la culture du black rot. 793
- , Sur les verrues des feuilles de la vigne. 473
- Vibrans**, Wie tief soll man pflügen, um sich die Tätigkeit der Bodenbakterien nutzbar zu machen? 362
- Vitek, Eugen s. Stoklasa, Julius.**
- Voglino, P.**, Sul parassitismo e lo sviluppo dello Sclerotium cepivorum Berk. sull'Allium sativum L. 239
- Volkart, A.**, Pflanzenschutz. 123
- , Taphrina rhaetica nov. spec. und Mycosphaerella aronici (Fuck.) 373
- Vuillemin, P.**, Sur les variations spontanées du Sterigmatocystis versicolor. 460
- Waele, H. de, Sugg, E. und Vandervelde, A. J. J.**, Sur l'obtention de lait cru sterile. (*Orig.*) 30
- Wagner, F.**, Die Bekämpfung der Blattläuse und des Rußtaues bei Hopfen durch Eintauchen der Pflanzen in Schmierseifenlösung. 377
- Wahl, R. und Nilson, A.**, Säurebildung durch Bakterien und die Funktionen der Peptase während des Keimens und Maischens. 560
- Weems, J. B. s. Pammel, L. H.**
- Wehmer, C.**, Ueber Kugelhefe und Gärung bei *Mucor javanicus* (*Orig.*) 277
- Welbel**, Beiträge zum Studium des Lysimeterwassers und der Nitrifikation des Bodenstickstoffs. 109
- Wender, N. und Lewin, D.**, Studien über die Triebkraft der Hefe. 458
- Wender, Neumann s. Neumann-Wender.**
- Wender, Neumann**, Ueber Sauerstoffgärung. 459
- Wichmann, H.**, Einleitung der Besprechung der neueren Gärverfahren auf dem österreichischen Brauertage in Wien am 13. Mai 1904. 364
- , Notiz zur Lebensdauer der Kulturhefe. 458
- Will, H.**, Vergleichende Untersuchungen an 4 untergärigen Arten von Bierhefe. VI. Wachstumsform der 4 Hefen auf festen Nährböden. (*Orig.*) 449. 545
- Will, H. und Braun, R.**, Bemerkungen zu der Mitteilung von Hjelte Clausen: Ueber die Sarcinakrankheit des Bieres und ihre Erreger. 459
- , Vergleichende Untersuchungen einiger in den letzten Jahren für den Brauereibetrieb empfohlenen Desinfektionsmittel. (2. Mitt.) (*Orig.*) 552
- Wimmer, G.**, Beitrag zur Kenntnis der Nitrifikationsbakterien. 557
- Winslow, C. E. A. und Belcher, D. M.**, Veränderungen in der Bakterienflora von Abwässern während der Lagerung. (*Orig.*) 226
- Young, W. J. s. Harden, A.**
- Zikes, H.**, Eine neue Methode zur Ueberprüfung von Desinfektionsmitteln gegenüber Mikroorganismen (*Orig.*) 543
- , Die Ueberprüfung von in Wasser löslichen Desinfektionsmitteln auf Mikroorganismen und eine neue Methode hierzu. 376

II. Namen- und Sachregister.

- Abwasser, Anlage in Iowa. 395
- , bakteriologische Analyse. 404
- , chemische Analyse. 403
- , Fettgewinnung. 571
- , Klärverfahren. 571
- , Veränderung der Bakterienflora. 226
- Acetylmethylcarbinol, Bildung durch Bakterien. 229
- Ackererde, Nitrifikation und Denitrifikation. 706
- Ackereulendraupe, Auftreten in Deutschland. 120
- Acrobasis-Art, Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
- Adoxus vitis, Rebenschädling. 120
- Aecidium Anchusae, Vorkommen. 371

- Aecidium Brunellae* Winter, Infektionsversuche. 95
 — *Helianthellae* s. *Puccinia Helianthellae*. 780
 — *Hydnoideum* B. et C. s. *Puccinia hydnoidea* (B. et C.) Arth. 782
 — *leucospermum* s. *Uromyces Lespedezae-procumbentis*. 781
 — *malvicola* Arth. O. u. I. auf *Althaea rosea*, *Malvastrum coccineum* u. *Callirrhoe involucrata*. 781
 — Mei Schroeter, Infektionsversuche mit *Aecidiosporen*. 536
 — *Mertensiae* Arth. O. u. I. auf *Mertensia paniculata* u. *M. Sibirica*. 781
 — *occidentale* Arth. O. u. I. auf *Clematis Douglasii*. 781
 — *Onosmodii* Arth. O. u. I. auf *Onosmodium molle* und *O. Carolinianum*. 780
 — *pustulatum* Curt. s. *Puccinia pustulata* (Curt.) Arth. 782
 — *Ranunculi* Schw. s. *Puccinia Eatoniae* Arth. 782
 — *recedens* Arth. O. u. I. auf *Solidago mollis*. 781
 — *Sophorae* n. sp. Kusano auf *Sophora platycarpa*. 782
Aelothrips fasciata L., Zuckerrübensschädling. 791
Agaricus-Arten, Ursache der Fäule der Fichte. 785
 — *campester*, Wirt von *Monilia fimiicola*. 461
 — *melleus*, Fichtenschädling. 785
 — —, Leuchten. 357
Agrilus sinuatus, Beziehung zum Obstbaumkrebs. 663
Agrotis, Zuckerrübensschädling. 467
 — *obelisca*, Rebenschädling. 120
 — *ypsilon*, Cedernschädling. 665
Aiptasia diaphana Rapp., biologischer Arsennachweis. 122
Alabama argillacea Hbn., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Albicatio der Zuckerrüben, Vorkommen. 468
Aleurodes-Art, Vorkommen in den Ver. Staaten. 790
 Algen, Volutingehalt. 570
 Alkohole, Wirkung auf die Entwicklung der Schimmelpilze. 139
Allescheria Laricis R. H., Lärchenschädling. 474
 Allotriinen, Vorkommen in Europa und Algier. 121
Alnus incana, Vorkommen eines Hyphenpilzes in den Wurzelanschwellungen. 788
Alternaria-Art, Gurkenschädling. 786
 — auf Gurken und Küchengewächsen. 655
Alternaria Solani Sorauer s. *Macrosporium Solani* Ell. et Mart. 662
 — — auf Kartoffeln. 655
 — — auf Tomaten. 655
 — —, Ursache des Nebels der Kartoffeln. 239
 — *Violae*, Vorkommen in den Ver. Staaten. 656
Amidase, Vorkommen bei *Aspergillus niger*. 230
Amylobacter, Vorkommen in Milch. 508
Amylomyces β , Wirkung von Metallsalzen. 140
 Anaëroben, Beziehungen zum Käsereifungsprozeß. 504. 589
 —, Vorkommen in Milch. 504. 589
 —, Züchtung und Isolierung. 513. 589
Anguillula radiculicola, Rebenschädling. 120
 Anopluren, Morphologie und Systematik. 792
Anthomyia conformis, Zuckerrübensschädling. 467. 776
Anthonomus grandis Boh., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
 — *piri*, Birnbaumschädling, Vorkommen im Küstenlande. 115
 — *pomorum* L., Apfelbaumschädling, Vorkommen im Küstenlande. 115
 — *signatus* Say., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
 Apfelkrebs s. *Sphaeropsis Malorum* Peck. 463
Aphanomyces laevis in leeren Phryganidennymphenhüllen. 236
 — *scaber* in leeren Phryganidennymphenhüllen. 236
 — *stellatus* in leeren Phryganidennymphenhüllen. 236
Aphis, Zuckerrübensschädling. 467
 — *Brassicae*, Vorkommen in Böhmen. 777
 — *Cerasi*, Vorkommen in Böhmen. 777
 — *forbesi* Weed., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
 — *gossypii* Glov., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
 — *Grossulariae* auf *Ribes rubrum*, Gallenbildung. 121
 — *Humuli*, Hopfenschädling in Böhmen. 777
 — *Mali*, Vorkommen in Böhmen. 777
 — —, Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
 — *papaveris*, Zuckerrübensschädling. 776
 — *Pruni*, Vorkommen in Böhmen. 777
 Apparat zur Ansammlung von Gärungsgasen. 765
 — zur Wasserentnahme aus Meeres-tiefen. 484

- Aramigus fulleri* Hom., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
- Arginase*, Vorkommen im tierischen Organismus. 230
- Arsen*, biologischer Nachweis. 122
- Artischocke*, Infektion mit *Bac. oleraceae*. 186
- Arve*, Blasenrost. 659
- Ascobolus furfurascens*, Chromosomenzahl. 455
- Ascodesmis nigricans*, Chromosomenzahl. 455
- Ascomycetella quitensis* Pat. s. *Henningiella quitensis* Rehm. 787
- *sanguinea* Speg. s. *Myriangium sanguineum* P. Henn. 788
- *sulphurea* Wint. s. *Myriangiopsis sulphurea* P. Henn. 787
- Askomyceten*, Fortpflanzung. 455
- , *Volutingehalt*. 510
- Aspergillus flavus*, Vorkommen in chinesischer Hefe. 154
- *glaucus*, Beziehung zur Schwefelwasserstoffbildung. 389
- , Vorkommen in chinesischer Hefe. 154
- *niger*, Atmung und Gärung. 681
- , Farbstoffbildung. 268
- , Ursache der „tache jaune“ des Korkes. 366
- , Vorkommen Amide spaltender Enzyme. 230
- , Wirkung von Metallsalzen. 140
- *Phoenicis* s. *Sterigmatocystis Phoenicis*.
- Aspidiotus perniciosus* Comst., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
- Astasia asterosporus* (Meyer) s. *Bacillus asterosporus* (Meyer) Mig. 750
- Astroconium Saccardoi* Syd. n. gen. et sp. auf *Litsea glaucescens*. 654
- Asterophlyctis sarcoptoides* n. gen. et spec. Petersen, Morphologie. 236
- Atmung der Mucoraceen* 490. 577
- der Schimmelpilze in Rollkulturen. 673
- verschiedener Hefearten in Rollkulturen. 22
- Aulocara Elliotii*, Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
- Azotobacter*-Arten, Stickstoffbindung im Boden. 111. 360. 456. 557
- *chroococcum* Beijerinck, Vorkommen im Meere. 555
- Bacillus acidi laevolactici*, Säuerung der Milch. 234
- *paralactici* Kozai, Säuerung der Milch. 234
- *amylovorus* auf Äpfeln, Birnen und Quitten. 653
- Bacillus asterosporus* A. Meyer, Kulturmerkmale. 750
- — —, Morphologie. 748
- *Berestnewi* n. sp. Lepeschkin, Bildung von septiertem Mycelium. 17
- — — —, Bildung von unseptiertem Mycelium. 18
- — — —, Vererbung der Zweigbildungsfähigkeit. 14
- — — —, Verzweigung und Mycelbildung. 13
- *brassicae* Pommer s. *Bacillus mycoides* Flügge. 752
- , Buttersäure-, beweglicher, Vorkommen in Milch. 507
- , —, in Säften der Zuckerfabriken. 648
- , —, unbeweglicher, Vorkommen in Milch. 507
- *butyri bruneus*, Vorkommen in Butter. 561
- *butyricus*, Farbstoffbildung. 106
- *casei* γ , Käseferment, Biologie. 520
- — γ , Käseferment, Biologie. 604
- — δ , — — 604
- — ϵ , — — 523
- *limburgensis*, Reifung des Limburger Käses. 702. 753
- *cereus* Frankland, Kulturmerkmale. 750
- — —, Morphologie. 748
- *cohaerens* Gottheil s. *Bacillus simplex* Gottheil. 752
- , Zweigbildungsfähigkeit. 16
- *coli*, Vorkommen in frisch gemolkener Milch. 407
- — *communis*, Vorkommen im Abwasser. 405
- *cyaneofuscus*, Farbstoffbildung. 106
- *denitrificans*, Gedeihen im Miste. 622
- — *agilis* (Ampola und Garino), Form. 4
- — — —, Kultur. 2
- *ellenbachensis* Stutzer - Hartleb s. *Bacillus cereus* Frankland. 752
- , Fäulnis-, Verhalten in Hefe. 644
- *figurans* Crookshand s. *Bacillus mycoides* Flügge. 752
- *firmitatis*, Reifung des Brieckäses. 694
- *flavus* Baumgarten, Bildung von Acetylmethylcarbinol. 229
- — *coli-similis*, Vorkommen in Kleie. 562
- *fluorescens aureus*, Farbstoffbildung. 106
- — *liquefaciens*, Farbstoffbildung. 105
- — —, Vorkommen in Butter. 560
- — *putidus*, Farbstoffbildung. 105
- *Freudenreichii*, Farbstoffbildung. 106

- Bacillus fuscus* Flügge, Bildung von Acetylmethylcarbinol. 229
 — *fusiformis* Gottheil, Kulturmerkmale. 750
 — — —, Morphologie. 748
 — *gliscens* n. sp. Molisch, Leuchtvermögen. 358
 —, Heu-, Verhalten in Hefe. 644
 — *implexus* Zimmermann s. *Bacillus mycoides* Flügge. 752
 — *intricatus* Russell s. *Bacillus mycoides* Flügge. 752
 — *lactopropylbutyricus non liquefaciens*, Vorkommen in Milch. 508
 — *liquefaciens*, Vorkommen in Kleie. 562
 — — *fluorescens*, Vorkommen im Abwasser. 405
 — *lucifer* n. sp. Molisch, Leuchtvermögen. 358
 — *luminescens* n. sp. Molisch, Leuchtvermögen. 358
 — *megatherium* de Bary, Kulturmerkmale. 750
 — — —, Morphologie. 748
 — — —, Vorkommen auf Samen und Keimpflanzen. 61
 — *mesentericus* Flügge, Kulturmerkmale. 750
 — — —, Morphologie. 748
 — — — L. et N., Vorkommen auf Samen und Keimpflanzen. 61
 — — *aureus* Winkler, Beziehung zu *Bacterium herbicola aureum* Düggeli. 61
 — — *fuscus* Flügge s. *Bacillus mesentericus* Flügge. 752
 — — —, Farbstoffbildung. 106
 — — — in Säften der Zuckerfabriken. 649
 — — *vulgatus*, Bildung von Acetylmethylcarbinol. 229
 —, Milchsäure-, Verhalten in Hefe. 644
 — *mycoides*, Kern. 645
 — — Flügge, Kulturmerkmale. 750
 — — —, Morphologie. 748
 — —, Vorkommen im Keimboden. 58
 — —, Vorkommen im Kuheuter. 408
 — *Nicotianae* n. sp. Uyeda, Erreger der Tabaks-„Wilt“-Krankheit. 327
 — *niger* Beijerinck, Bildung von Acetylmethylcarbinol. 229
 — *nobilis* Adametz, Käseferment, Biologie. 514
 — *oleraceae* n. sp. Harrison, Dauer der Virulenz. 54
 — — — —, Enzyme. 194
 — — — —, Geruchentwicklung. 192
 — — —, Infektionsversuche. 49. 185
 — — n. sp. Harrison, kulturelles Verhalten. 188
 — — — —, Morphologie. 187
 — *oleraceae* n. sp. Harrison, Pflanzenschädling. 46. 185
 — — — —, seine schädigende Wirkung begünstigende Umstände. 196
 — — — —, Wirkung des Sonnenlichtes. 193
 — — — —, Wirkung der Temperatur. 192
 — *oxalaticus* (Zopf), Form. 6
 — —, Kern. 645
 — — (Zopf), Kultur. 8
 — *petasites* Gottheil s. *Bacillus megatherium* de Bary. 751
 — *photogenus* n. sp. Molisch, Leuchtvermögen. 358
 — *prodigiosus*, Uebergang in frisch gemolkene Milch. 284
 — —, Vorkommen im Abwasser. 405
 — *pumilus* Gottheil s. *Bacillus mesentericus* Flügge. 752
 — *putrificus* Bienstock, Vorkommen in Milch. 507
 — *pyocyaneus*, Gedeihen im Miste. 617
 — *radiciformis*, Vorkommen im Kuheuter. 408
 — *radicosus* Zimmermann s. *Bacillus mycoides* Flügge. 752
 — —, Kern. 645
 — *ramosus* Eisenberg s. *Bacillus mycoides* Flügge. 752
 — — *liquefaciens* Flügge s. *Bacillus cereus* Frankland. 752
 — *rhinoscleromatis*, Vorkommen im Abwasser. 227
 — *ruber* Migula, Bildung von Acetylmethylcarbinol. 229
 — — *balticus*, Farbstoffbildung. 271
 — *ruminatus* Gottheil, Kulturmerkmale. 750
 — — —, Morphologie. 748
 — *saccharobutyricus*, Vorkommen in Milch. 508
 — *simplex* Gottheil, Kulturmerkmale. 750
 — — —, Morphologie. 748
 — *solanacearum* auf Tomaten. 656
 — *subtilis*, Bildung von Acetylmethylcarbinol. 229
 — —, Kulturmerkmale. 750
 — —, Morphologie. 748
 — — in Säften der Zuckerfabriken. 649
 — —, Vorkommen im Abwasser. 227
 — —, Vorkommen im Kuheuter. 408
 — — -Gruppe, chemische Funktionen. 745
 — — —, Färbung. 739
 — — —, Größenverhältnisse bei einzelnen Bakterien. 738
 — — —, Klassifikation. 746
 — — —, Kulturmerkmale. 742
 — — —, Schwärmstadium. 742
 — — —, Sporangienstadium. 742
 — — —, Sporenkeimung. 740
 — — —, Sporenstruktur. 739

- Bacillus subtilis*-Gruppe, Uebersicht. 737
 — — —, vegetatives Stadium. 741
 — *tracheiphilus* auf Gurken und Küchen-
 gewächsen. 655
 — *tuberculosis*, Vorkommen in Butter. 560
 — *tumescens* Zopf, Kulturmerkmale. 750
 — — —, Morphologie. 748
 — *vascularum*, Ursache der Cobbschen
 Krankheit des Zuckerrohres. 729
 — *vulgatus* (Flügge) Migula, Vorkom-
 men auf Samen und Keimpflanzen. 61
 —, Wurzel-, Eisenberg s. *Bacillus my-*
coides Flügge. 752
Bacterium aërogenes, Farbstoffbildung. 106
 — *casei* Adametz s. *Bacillus mycoides*
 Flügge. 752
 — *coli*, Vorkommen im Abwasser. 227
 — —, Vorkommen im Keimboden. 58
 — —, Vorkommen in Kleie. 562
 — — (Escherich) L. et N., Vorkom-
 men auf Samen und Keimpflanzen. 61
 — — -Art, Vorkommen bei der Flachs-
 röste. 175. 314
 — — *commune*, Farbstoffbildung. 106
 — *fluorescens*, Vorkommen im Keim-
 boden. 56
 — — (Flügge) L. et N., Vorkommen
 auf Samen und Keimpflanzen. 61
 — — *liquefaciens*, Vorkommen bei der
 Flachs-röste. 175
 — *herbicola aureum* Düggeli, Beziehung
 zu *Bacillus mesentericus aureus*
 Winkler. 61
 — — — n. sp. Düggeli, Morphologie. 62
 — — — — —, Physiologie. 198
 — — —, Vorkommen im Keimboden. 56
 — — *rubrum* n. sp. Düggeli, Morpho-
 logie. 200
 — — — — —, Physiologie. 201
 — — — — —, Vorkommen auf Samen,
 Früchten und Keimpflanzen. 200
 — *lactis acidii*, Käseferment, Biologie. 516
 — — —, Vorkommen in frisch ge-
 molkenener Milch. 282. 289
 — — *aërogenes*, Farbstoffbildung. 106
 — — —, Vorkommen in frisch ge-
 molkenener Milch. 282. 407
 — *lactorubefaciens*, Farbstoffstoffbil-
 dung. 105
 — *mali* auf Äpfeln, Birnen und Quitten. 655
 — *Megatherium*, Vorkommen im Keim-
 boden. 58
 — *phosphoreum*, Leuchten. 357
 — *prodigiosum*, Farbstoffbildung in
 gezuckerten Mineralsalz - Nährlösun-
 gen. 105
Bacterium putidum, Vorkommen im
 Keimboden. 58
 — — (Flügge) L. et N., Vorkommen
 auf Samen und Keimpflanzen. 61
 — des Stallgeruches, Farbstoffbildung. 106
 — *synxanthum*, Farbstoffbildung. 105
 — *teutlium* n. sp. Metcalf, Kultur. 29
 — — — — —, Morphologie. 28
 Bakterien, Aenderungen der Farben. 129. 257
 —, Boden-, Stickstoffbindung. 110. 360. 455
 — —, Wirkung der Durchlüftung des
 Bodens. 362
 —, coliartige, in Säften der Zucker-
 fabriken. 648
 —, Farbstoffbildung in gezuckerten
 Mineralsalz-Nährlösungen. 105
 —, Kerne. 645
 —, Knöllchen-, Tätigkeit. 559
 —, Leuchtvermögen. 358
 —, Licht erzeugend. 227
 — in der Milch, Abtötung durch Wasser-
 stoffsuperoxyd. 716
 —, Milchsäure-, Vorkommen in Butter. 560
 —, Morphologie und Physiologie. 1
 —, Säure erzeugende, Wirkung auf d.
 Löslichkeit des Eiweißes der Gerste
 beim Maischen. 112
 —, Säurebildung. 560
 —, Schwefelwasserstoffbildung. 385
 —, Stickstoff bindende, Vorkommen im
 Meere. 554
 — — sammelnde. 650
 —, Stickstoffbindung. 455. 557
 —, Tätigkeit im Bracheboden. 363
 —, Volutingehalt. 569
 —, Vorkommen im atlantischen Ozean. 481
 — — bei der Flachs-röste. 175. 314
 — — auf Gurken. 786
 — — in Kleie. 561
 — — im Kuheuter. 281. 407
 — — im Miste. 616
 — — in den Säften der Zuckerfabriken. 648
 — — im Schlamm einer Grabstätte. 112
 Bakterienflora von Abwässern, Verände-
 rungen beim Lagern. 226
 — — Samen und Keimpflänzchen. 56. 198
Balaninus proboscoides, Vorkommen
 in den Ver. Staaten. 789
 — *rectus*, Vorkommen in den Ver.
 Staaten. 789
 — *nucum* L., Haselnußschädling. 791
Balanus elephas Gyllh., Edelkastanien-

- schädling, Vorkommen im Küstenlande. 115
- Bier, Erreger der Sarcinakrankheit. 459
- Bierhefe s. Hefe, Bier-.
- Bierleitung, Infektion. 365
- Bispora monilioides, Ursache des falschen Kernes des Rotbuchenholzes. 367
- Bitterfäule von Früchten, verursacht durch *Trichothecium roseum* Link. 664
- Black-rot-Pilz, Kultur. 793
- Blaniulus guttulatus Gew., Gurkensschädling. 787
- — —, Schädiger des Pflanzenbaues. 790
- Blasenfüße s. Thysanopteren.
- Blasenrost der Arve, Ursache. 659
- Blattfleckenkrankheit der Kartoffel, Vorkommen in Amerika. 661
- Blattläuse s. Läuse, Blatt-.
- , Bekämpfung. 252
- , Gurkensschädlinge. 787
- , Zuckerrübensschädlinge. 467
- Boarmia gemmaria, Rebenschädling. 120
- Boden, Behandlung mit Schwefelkohlenstoff. 573
- , Brache-, bakteriologische Vorgänge. 363
- , Nitrifikation. 559
- , Stickstoffbindung durch Bakterien. 557
- , Stickstoffsammlung durch Lupinen. 558
- , Tätigkeit der Knöllchenbakterien. 559
- Bodenbakterien s. Bakterien, Boden-.
- , Stickstoffbindung. 110
- Bodenbakteriologie, praktische Bedeutung. 556
- , Stand- und Aufgaben. 359
- Bodenimpfung bei Hochmoorkultur. 111
- Bodenstickstoff, Bindung. 109
- Bodenuntersuchung, bakterielle, zur Feststellung der Bodenfruchtbarkeit. 555
- Bombix (Ocnaria) dispar L., Rebenschädling, Vorkommen im Küstenlande. 114
- Borkenkäfer, Schädlichkeit. 666
- , Vorkommen in Bayern. 250
- — in Hessen. 250
- Borreria ciliaris, Chromosomenzahl. 455
- Bostrychidae, Vorkommen in Indien. 665
- Botryodiplodia Mali P. Brund., Beziehung zu *Sphaeropsis Malorum* Peck. 464
- Botryosporium pulchellum, cytologische Untersuchungen. 237
- Botrytis auf Zierpflanzen. 656
- bassiana, Feind der *Haltica ampelophaga*. 251
- Botrytis cinerea auf Gurken und Küchengewächsen. 655
- citricola n. sp. Brizi auf Citronen und Apfelsinen. 470
- parasitica, Tulpensschädling. 786
- vulgaris auf Gurken u. Küchengewächsen. 655
- — Fries auf Zwiebeln. 777
- Brache, Stickstoffgewinn. 651
- Bracheboden s. Boden, Brache-.
- Brand, schwarzer s. *Sphaceloma ampelinum*.
- Brandkrankheiten des Getreides, Infektion. 368
- Brassica oleracea, geschädigt durch *Bacillus oleraceae* n. sp. Harrison. 46. 185
- —, histologische Veränderungen durch *Bacillus oleraceae*. 48
- —, Infektion mit *Bacillus oleraceae*. 49
- Brauereigewerbe, Fortschritte. 364
- Bremia lactucae auf Gurken und Küchengewächsen. 655
- Brot, baryumkarbonathaltiges, zur Mäusevertilgung. 378
- Brunissure, Vorkommen im Küstenlande. 114
- Brusca, Olivenkrankheit, Erreger, 470.
- Butter, Tuberkelbacillengehalt. 560
- Buttersäurebacillus s. *Bacillus*, Buttersäure-. 507
- Caeoma confluens s. *Melampsora Ribesii* viminalis Kleb. 778
- — auf Stachelbeerblättern. 777
- Calophya rhois F. Löw auf dem Perückenstrauch, Gallenbildung. 790
- Camnulla pellucida, Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
- Capnodium salicinum, Rebenschädling. 121
- Carpocapsa (Tortrix) amplana, Edelkastanienschädling, Vorkommen im Küstenlande. 115
- Cathoxantha gigantea, Schädling des Kakaobaumes. 250
- Cattleya Mossia, Wirt von *Pythium* und *Physalospora* Cattleyae. 785
- Cecidomyia vitis, Rebenschädling. 120
- Cedrus deodara Lond., Schädlinge. 665
- Cephalophora irregularis n. gen. et spec. Thaxter auf Exkrementen. 236
- tropica n. gen. et spec. Thaxter auf Exkrementen. 236
- Cephalosporium dendroides, Beziehung zu *Botryosporium pulchellum*. 237
- Koningi Oud., Rolle bei der Humifikation. 235
- Cephalothecium roseum auf Aepfeln, Birnen und Quitten. 655
- —, Fäulnis erregend. 335

- Cephalothecium roseum* Corda, Ursache der Bitterfäule der Äpfel. 664
Ceratocystis fimbriata auf Gurken und Küchengewächsen. 656
Ceratostoma Juniperinum Ell. et Ever. auf *Juniperus communis*. 661
Cercospora angulata auf Beerenfrüchten. 655
— *betica* auf Zuckerrüben. 656
— — *Sacc.* auf Zuckerrüben. 468
— *nicotianae* auf Tabak. 656
Cercospora aronicea auf *Aronicum scorpioides*. 373
Cerevisine, therapeut. Verwertbarkeit. 233
Ceutorhynchus sulci collis, Vorkommen in Böhmen. 777
Chalcodermus aeneus Boh., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Cheimatobia brumata L., Kirschbaumschädling, Vorkommen im Küstenlande. 115
Chermes Laricis auf Lärchenästchen. 778
Chlorops taeniopus, Vorkommen in Böhmen. 776
Chromophyton Rosanoffi, Leuchten. 356
Chrysomya Abietis auf Fichtennadeln. 778
Cichorium Endivia, geschädigt durch *Puccinia Prenanthidis*. 471
Cladophora, Vorkommen in Abwasseranlagen. 405
Cladosporium auf den braunen Blattflecken der Kartoffeln. 662
— *carpophilum* auf Pfirsichen. 655
— *cucumeris* Frank., Gurkenschädling. 786
— *cucumericum* auf Gurken und Küchengewächsen. 655
— *fulvum* auf Tomaten. 655
— *herbarum* Link auf Weizensamen. 779
— *Pisi* Cug. et Macch. auf Erbsen. 779
Clinidiplosis, Rebenschädling. 120
Clostridien, Vorkommen bei der Flachsröste. 175
Clostridium foetidum lactis, Vorkommen in Milch. 602
— *gelatinosum Laxa* in Säften der Zuckerfabriken. 648
— *Pasteurianum* Winogradsky, Stickstoffbindung im Boden. 557
— — —, Vorkommen im Meere. 555
— *Pastorianum*, Stickstoffbindung. 11
Coccinella repanda, Feind der *Perkinsiella saccharicida*. 374
Coelodes fuliginosus, Mohnschädling. 776
Coepophagus echinopus, Rebenschädling. 473
Coleochaete, Volutinkörner. 570
Coleophora hemerobiella, Apfelbaumschädling. 777
Coleophora laricella auf Lärchenästchen. 248. 778.
Coleosporium campanula, Fetttröpfchen im Kerne. 646
Colletotrichum gloeosporioides auf tropischen Früchten. 655
— *lagenarium* auf Gurken und Küchengewächsen. 655
— — *Pass.*, Ursache der Anthraknose der Gurken. 786
— *Lindemuthianum* auf Gurken und Küchengewächsen. 656
Conferva, Vorkommen in Abwasseranlagen. 405
Coniothyrium-Art auf Beerenfrüchten. 655
Conotrachelus Crataegi Walsh., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Copeognathus s. Nymphopsocus destructor Enderl. 667
Corticium vagum var. *solani* auf Kartoffeln. 655
Cotoneaster integerrimus, Gallenbildung. 790
Crenothrix polyspora, Vorkommen in Brunnenwässern. 106
— —, Vorkommen im Luftpumpenwasser einer Zuckerfabrik. 648
Crioceris Asparagi L., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Cronartium Ribicola, Ursache d. Arvenblasenrostes. 659
Cuscuta epithymum auf Getreide und Futtergewächsen. 656
— *gronovii* Willd. auf Gurken. 787
— *Trifolii*, Vorkommen in den Ver. Staaten. 656
Cylas formicarius Fab., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Cylindrosporium padi auf Pfirsichen. 655
Dactylopius vitis, Rebenschädling. 120
Dalbergia sissoo Roxb., Schädlinge. 665
Dattelbrand, verursacht durch *Sterigmatocystis Phoenicia*. 466
Dauerhefepräparate s. Hefe.
Degeeria funebris, Feind der *Haltica ampelophaga*. 251
Dematophora necatrix, Rebenschädling. 121
Dendroctonus frontalis Zimm., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
— *micans* (Kug.) s. *Hylesinus micans*. 475
Denitrifikation in der Ackererde. 706
Dentrocalamus strictus L., Schädlinge. 665
Desinfektionsmittel für den Brauereibetrieb, Untersuchung. 552
—, Prüfung gegenüber Mikroorganismen. 376. 543

- Diabrotica duodecim punctata* Ol., Vorkommen in den Ver. Staaten. 790
 — *vittata* Fab., Gurkenschildling. 787
Diaspis pentagona, Bekämpfung im Küstenlande. 115
 — — auf Catalpastämmen. 461
 — *piricola*, Apfelbaumschildling. 464
Dictyothrips betae Uzel, Zuckerrübenschildling. 791
Dilophosphora graminis auf Spelzpflanzen. 372
Dimorphopterix pinguis Nort., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Diplodia cacaoicola, Schädling des Kakaobaumes. 250
 — *maura* Cooke et Ellis, Beziehung zu *Sphaeropsis Malorum* Peck. 464
 — *pseudo-diplodia* Fuck., Identität mit *Sphaeropsis Malorum* Peck. 464
Dothidea ulmea, Vorkommen in den Ver. Staaten. 656
 Drahtwürmer, Bekämpfung. 252
 Dünger, Bakterienflora. 2

 Early blight s. Blattfleckenkrankheit der Kartoffel. 661
Ectrodelphax (!) *Fairchildii* n. sp., Feind der *Perkinsiella saccharicida*. 374
 Eisenvitriol-Streupulver z. Bekämpfung des Hederichs. 575
 Eiweiß der Gerste, Bewirkung der Löslichkeit während des Maischens. 112
Elaphomyces variegatus, Fettkörper im Kerne. 646
 Elektrizität, Ursache der Gipfeldürre der Fichten. 660
Enarmonia caryana Fitch., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Endocarpon miniatum, Chromosomenzahl. 455
Entomosporium maculatum auf Äpfeln, Birnen und Quitten. 655
 Enzyme, Amide spaltende, Vorkommen bei Pilzen. 230
 —, gärungserregende, Isolierung aus dem Pflanzenorganismus. 86
 —, Labilität und Aktivität. 563
 —, Vorkommen in Hefen. 647
 —, Vorkommen bei der Keimung. 774
 Enzymtheorie, Entwicklung. 565
Ephestia kuehniella Zell., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
 Epichloë, Schädlichkeit für das Vieh. 123
Epitrix cucumeris Harv., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
 Erbllichkeit bei einzelligen Organismen. 13
 Erbsensamen, Wirt von *Cladosporium Pisi* Cug. e Macch. 779
 Erepsin, Vorkommen in der Bierhefe. 774
 —, Vorkommen im Dünndarm von Pflanzenfressern. 231

Eriophyes Geranii auf *Geranium sanguineum*, Gallenbildung. 121
 — *piri* Nal. auf *Sorbus terminalis*, Gallenbildung. 790
 — *populi* Nal. auf *Populus nigra* L., Gallenbildung. 790
 — *tetratrichus* Nal. auf *Tilia ulmifolia*, Gallenbildung. 790
 — *Thomasi* auf *Thymus Serpyllum*, Gallenbildung. 121
 Erysiphaceen, Infektionsversuche. 246
 —, Parasitismus. 245
 Erysiphe-Art auf Gurken und Rübengewächsen. 656
 — *graminis* D. C., Infektionsversuche. 247
 — *Martii*, Vorkommen auf Rotklee und Luzerne. 123
 Eucölinen, Vorkommen in Europa und Algier. 121
Eudemis botrana Schiff., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Euphorbia Cyparissias, Infektion mit Teleutosporen von *Uromyces Pisi* (Pers.). 64
Exoascus Theobromae, Schädling des Kakaobaumes. 250

 Fäulnis, Kernobst-, verursacht durch *Fusarium putrefaciens* n. sp. Osterwalder. 207. 330
 Farbenänderung bei Pilzen und Bakterien. 129. 257
 Farbstoff, Bildung von Bakterien in gezuckerten Mineralsalz-Nährlösungen. 105
 —, Bildung bei *Sterigmatocystis versicolor*. 460
 Federbuschkrankheit der Spelzpflanzen. 327
 Feigenbrand, verursacht durch *Sterigmatocystis Ficum*. 466
 Feldmaus, Zuckerrübenschildling. 467
 Fermente in Hefen, Leistungen. 353
 —, Käse-, Biologie. 161. 291. 428. 514. 604. 687. 753
 Fettsäuren, flüchtige, im Käse. 161. 291. 428. 514. 604. 687. 753
 Fichte, Entstehung und Verhütung der Stockfäule. 785
 —, Fäule, verursacht durch *Agaricus*-Arten. 785
 —, Mykorrhiza. 785
 —, Rotfäule, verursacht durch *Polyporus annosus*. 785
 Fichten, Ursache der Gipfeldürre. 660
Fidia viticida Walsh., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
 Figitinen, Vorkommen in Europa und Algier. 121
 Flachs, Bakteriengehalt des Röstmaterials. 175
 —, Verbesserung der Wasserröste. 321

- Flachs, Wasserröste. 35. 171. 306
 —, Wasserröste, bakteriologische Untersuchungen. 173
 —, —, chem. Untersuchungen der verwendeten Pektinstoffe. 42
 —, —, mikroskopische Untersuchungen. 38
 Flachsroste, chemische Untersuchung der Röstflüssigkeit. 317
 Fleischextrakt, Untersuchung auf Xanthinkörper. 233
 Flüssigkeiten, gärende, Infektionsquotient. 354
 Flugbrand, Krankheitskeime im Getreidekorn. 462
 — der Sommergetreidesaaten, Bekämpfung. 243
 Fluorammonium, Desinfektionsmittel. 553
 Flußsäure, Desinfektionsmittel. 553
 Forstschutz gegen Tiere. 794
 Fulminaria Gobi s. Harpochytrium Lagerheim. 238
 Fumago vagans auf Aepfeln, Birnen und Quitten. 655
 — — auf den Exkrementen von Aphis Humuli. 777
 Furunkuline, therapeutische Vererbbarkeit. 233
 Fusarium auf Getreide und Futtergewächsen. 656
 — auf Kartoffeln. 656
 — auf Tomaten. 655
 — auf tropischen Früchten. 655
 — auf Zierpflanzen. 656
 — lini auf Flachs. 656
 — niveum auf Gurken. 786
 — oxysporum auf Kartoffeln. 655
 — putrefaciens n. sp. Osterwalder, Erreger der Kernobstfäule. 207. 330
 — — —, Infektionsversuche. 332
 — — —, Kultur. 330
 — Solani auf Kartoffeln. 463
 Fusicladium, Ursache der Schorfkrankheit. 670
 — aronici auf Aronicum scorpioides. 373
 — dendriticum, Beziehung zum Obstbaumkrebs. 663
 — effusum, Vorkommen in den Ver. Staaten. 656
 — pirinum, Vorkommen in Böhmen. 777
 — pyrinum, Beziehung zum Obstbaumkrebs. 663
 Fusoma Pini R. H., Fichtenschädling. 474
 Futterpflanzen, Krankheiten in Böhmen. 776
 Gärkeller, Infektion. 775
 Gärung, alkoholische, der Mucoraceen. 490. 577
 — mittels Hefepreßsaftes. 108
 Gärung, Sauerstoff- 459
 — der Schimmelpilze in Rollkulturen. 673
 — verschiedener Hefearten in Rollkulturen. 22
 Gärungsgase, Apparat zur Ansammlung. 765
 Gärungsindustrie, Streifzüge. 107
 Gärungsorganismen, Jahresbericht. 105
 Gärungsphysiologie, Bedeutung für die Praxis. 363
 Gärungsröhren, Gestell. 225
 Gärungstheorie, Ausgestaltung bis zur Gegenwart. 565
 Gärverfahren, neuere. 364
 Galactinia succosa, cytologische Untersuchungen. 236
 Galactococcus versicolor albus Guillebeau, Vorkommen in frisch gemolkener Milch. 288
 — — fulvus Guillebeau, Vorkommen in frisch gemolkener Milch. 288
 Gallen, Stengel-, Morphologie. 121
 —, Vorkommen in Tirol. 790
 Gallmücke s. Cecidomyia vitis.
 Gallwespen, Vorkommen in Europa und Algier. 121
 Gase, Gärungs-, Apparat zur Ansammlung. 765
 Gemüsepflanzen, Krankheiten in Böhmen. 776
 Geranium sanguineum, Gallenbildung. 790
 Gerstenkorn, Bau. 774
 Getreide, Bekämpfung des Flugbrandes. 243
 —, Brandkrankheiten. 368
 —, geschädigt durch Jassus sexnotatus. 776
 Getreidehalme, Mißbildung. 666
 Gipfeldürre der Fichten, verursacht durch elektrische Ausgleichungen. 660
 Giftmorchel s. Ithyophallus impudicus. 471
 Glenea novemguttata, Schädling des Kakaobaumes. 250
 Gloeosporium-Arten auf Gurken. 786
 — nervisequum, Vorkommen in den Ver. Staaten. 656
 — Psidii n. sp. G. Del. in Guyavaäpfeln. 655
 — Ribis, Diagnose. 82
 — Tiliae maculicolum s. Gloeosporium tiliaecolum Allescher. 788
 — tiliaecolum Allescher auf Tilia parvifolia. 788
 — Trifolii, Vorkommen in den Ver. Staaten. 656
 — variabile Laubert, Diagnose. 85
 — —, Ursache der Blattfleckenkrankheit von Ribes alpinum. 249

- Glomerella rufomaculans* auf Aepfeln, Birnen und Quitten. 655
 — — auf Tomaten. 655
Gracillaria syringella auf Fliederblättern. 778
Granulobacter saccharobutyricum, Vorkommen in Milch. 508
Grapholitha botrana W. V., Bekämpfung. 795
 — — Schöff., Rebenschädling. 120
 — *caryana* s. *Enarmonia caryana*.
 — *pactolana*, Ursache der Gipfeldürre der Fichten. 661
 — *Woerberiana* W. V., Beziehung zum Obstbaumkrebs. 663
Graphops marcassitus, Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
 — *nebulosus*, Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Gryllotalpa borealis Burn., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Guignardia Bidwellii (Ellis) Viala et Ravaz, Konidienform. 654
 — — — — —, Kultur. 793
 Gummifluß der Gurken, Ursache. 787
 Gummikrankheit des Zuckerrohres, Ursache. 729
 Gurken, *Peronospora*-Krankheit. 466
 Gurkenkrankheiten. 786
Gymnosporangium aurantiacum n. sp. auf *Libocedrus decurrens*. 653
 — *confusum*, Infektionsversuche. 653
 Hafer, befallen von *Tarsonemus spirifex* March. 374
Haltica ampelophaga, bekämpft durch *Botrytis bassiana*. 251
Halticus saltator Geoffr., Gurkenschädling. 787
Harpochytrium Hedenii Wille auf *Spirogyra*. 238
 — *Hyalothecae* Lagerh. auf *Hyalotheca dissilicus*. 238
 — *intermedium* Atkinson auf *Conferva utriculosa*. 239
 Haselnußbohrer s. *Balaninus nucum* L.
 Hederich, Bekämpfung mit Eisenvitriolstreupulver. 574
 Hefe, Absterben. 103
 —, Bier-, Nachweis in Preßhefe. 355
 —, —, Riesenkolonien, Wachstum auf Biergelatine. 546. 551
 —, —, —, Wachstum auf Bouillon-peptongelatine. 548
 —, —, —, Wachstum auf Würzelgelatine. 449. 545. 548
 —, —, Vorkommen von Erepsin. 774
 —, Brennerlei-, abnorme Zellformen. 150
 —, chinesische, Bestandteile. 153
 —, Dauerpräparate, biologische Eigenschaften und therapeutische Verwertbarkeit. 233
 Hefe, Einfluß verschiedener Organismen. 641
 —, Enzyme. 647
 —, Enzymtätigkeit. 97
 —, Gärung und Atmung. 22
 —, Gärversuche mit Preßsaft. 108
 —, Haltbarkeit. 97
 —, Kern. 645. 647
 —, Kugel- s. Kugelhefe.
 —, Kultur-, Lebensdauer. 458
 —, Kulturrassen, Lebensdauer. 641
 —, Lebensdauer. 101
 —, Leistungen der Fermente. 353
 —, Milchsäure-, Säuerung der Sahne. 109
 —, Milchzucker vergärend. 232
 —, Preß-, Nachweis von Bierhefe. 355
 — —, sparriger Typus, Vorteile. 355
 — in Säften der Zuckerfabriken. 649
 —, Triebkraft. 458
 —, Vorkommen bei der Flachsröste. 175. 314
 —, Wachstum in mineralischer Nahrungslösung. 144
 —, wilde, Infektion des Bieres. 774
 — —, Vorkommen in Butter. 560
 Hefeextrakte, Untersuchung auf Xanthinkörper. 233
 Hefekatalase, Wirkung. 459
 Heferassen, Kultur-, Verhalten bei verschiedenen Temperaturen. 97
Heliothis armiger Hbn., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Helminthosporium inconspicuum auf Getreide- und Futtergewächsen. 656
Helopeltis, Schädling des Kakaobaumes. 250
Hemileia vastatrix auf Kaffee. 656
 Hemipterocecidien, Vorkommen in Tirol. 790
Hendersonia graminis auf Weizen. 373
Henningsiella quitensis Rehm, Systematik. 787
Heterocephalum aurantiacum n. gen. et sp. Thaxter auf Exkrementen. 236
Heterodera radicola auf Gurken. 461
 — *Schachtii* auf Zuckerrüben. 468
Heterosporium echinulatum auf Zierpflanzen. 656
 Heuwurm, Auftreten in Deutschland. 120
 —, Bekämpfung. 795
Histiostoma Feroniarum auf Gurkenwurzeln. 461
 Hochmoorkultur, Bodenimpfung. 111
 Holz, Rotbuchen-, falscher Kern, Ursache. 366
 —, —, Zersetzung, Ursache. 366
 Hopfen, geschädigt durch *Peritelus griseus* Oliv. 474
 —, Krankheiten in Böhmen. 777
 Hülsenfrüchte, Krankheiten in Böhmen. 776

- Humifikation, Rolle der Pilze. 235
Hylesinus micans Kug., Fichtenschädling. 475
 — *oleiperda* F., Olivenschädling, Vorkommen im Küstenlande. 115
Hylobius abietis (L.), Bekämpfung. 795
 Hyphomyceten, Vorkommen in Nordamerika. 236
Hypoborus ficus Eriks., Feigenschädling, Vorkommen im Küstenlande. 114
Hypocrea gelatinosa, Farbstoffbildung. 268
 — *rufa*, Ausscheidung von Wasser und Säure. 266
 — —, Einfluß von Licht und Feuchtigkeit auf die Farbe. 265
 — —, Einfluß des osmotischen Druckes auf die Farbenänderung. 138. 257
 — —, Einfluß der Reaktion des Mediums auf Farbe und Sporenbildung. 261
 — —, Einfluß des Sauerstoffes auf die Farbe. 264
 — —, Einfluß des Wachstums auf die Reaktion des Nährbodens. 259
 — —, Einfluß der Zusammensetzung des Mediums auf die Farbenänderung. 133
 — —, Löslichkeit der Farbstoffe. 267
 — —, Morphologie. 131
Hyponomeuta malinella, Apfelbaumschädling. 777
Hypoxylon coccineum, Ursache des falschen Kernes des Rotbuchenholzes. 367
Janetiella thymicola auf *Thymus Serpyllum*, Gallenbildung. 121
Jassus sexnotatus, Getreideschädling. 776
Johannisbeere, Wirt von *Gloeosporium ribis*. 82
Juniperus communis, Wirt von *Ceratostoma Juniperinum* Ell. et Ever. 661
 Infektion, Betriebs-, im Lüftungsverfahren, Verhütung. 647
 Infektionsquotient, Feststellung bei gärenden Flüssigkeiten. 354
 Insekten, Forst-, schädliche, in Indien. 665
 —, schädliche, Vorkommen in den Ver. Staaten 1903. 789
 Intumescenzen der Reben, Vorkommen. 473
 Invertase, Vorkommen in Hefe. 647
Ips acuminatus Gyll., Schädlichkeit. 666
 — *amitinus* Eichh., Schädlichkeit. 666
 — *sexdentatus* Boern., Schädlichkeit. 666
Ips typographus L., Schädlichkeit. 666
Isosoma graminicola auf *Agropyrum*, Gallenbildung. 122
 — *hyalipenne* auf *Psamma arenaria*, Gallenbildung. 122
Ithycerus noveboracensis Forst., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Ithyophallus impudicus Fries., Rebenschädling. 471
 Käse, Backstein-, nach Limburger Art, Fettsäuregehalt. 696
 —, Bereitung mit pasteurisierter Milch. 109
 —, Brie-, Fettsäuregehalt. 694
 —, Camembert-, Fettsäuregehalt. 694
 —, Edamer, Fettsäuregehalt. 613
 —, Glarner Schabzieger, Fettsäuregehalt. 755
 —, Roquefort-, Fettsäuregehalt. 690
 —, Schweizerischer Mager-, Fettsäuregehalt. 613. 687
 —, Spaltung der Fettstoffe. 167. 291
 —, Untersuchung der flüchtigen Fettsäuren. 161. 291. 428. 514. 604. 687. 753
 —, Zersetzung des Milchzuckers. 292
 —, Zersetzung des Parakaseins. 164
 Käsefermente s. Fermente, Käse-
 Käsereifungsprozeß, Rolle der Anaerobien. 504. 589
 Kakaobaum, Kultur und Schädlinge. 250
 Kartoffel, Infektion mit *Bac. oleraceae*. 186
 —, Nebel der-, erzeugt durch *Alternaria Solani*. 239
 Kartoffelkrankheiten, Erreger. 463
 Katalase, Hefe-, Wirkung. 459
 —, Vorkommen in Hefe. 647
 Keimen, Funktion der Peptase. 560
 Keimpflänzchen, Bakterienflora. 56. 198
 Keimung, Physiologie. 774
 Kern der Bakterien, Beschreibung. 645
 — — Hefe, Beschreibung. 647
 Kernobstfäule, verursacht durch *Fusarium putrefaciens* n. sp. Osterwalder. 207. 330
 Klärverfahren für städt. Abwässer. 571
 Kleekrebs s. *Sclerotinia trifoliorum*. 670
 Kleie, Fütterungsversuche an weißen Mäusen. 562
 —, Schimmelbildung. 561
 —, Vorkommen von Bakterien. 561
 Knöllchenbakterien s. Bakterien, Knöllchen-
 Kokken, schleimbildende, in Säften der Zuckerfabriken. 648
 Kräuselkrankheit der Zuckerrüben, Erreger. 467
 Krankheiten, Pflanzen-, innere Therapie. 251

- Krebs der Obstbäume, Behandlung. 251
 — — —, Ursache. 662
 Kryptogamen, niedere, Sammeln und Präparieren. 668
 Kürbis, Peronosporakrankheit. 466
 Kugelhefe, Bildung bei *Mucor javanicus*. 277
 Kuheuter, Vorkommen von Bakterien. 281. 407
 Kulturhefe s. Hefe, Kultur.
 Kulturheferassen s. Hefe, Kulturrassen.
 Kupferglucke, Rebenschädling. 120
 Kupferkalkbrühe zur Bekämpfung der Schorfkrankheit. 670
 Kupfersodabrühe zur Bekämpfung der Schorfkrankheit. 670
 Labiaten, Kultur von Uredineen. 95
 Laboratorium, bakteriologisches bei Bern, Einrichtung. 631
Lachnosterna hirticula, Vorkommen in den Ver. Staaten. 790
 — *rugosa*, Vorkommen in den Ver. Staaten. 790
Lactarius-Arten, Mißbildungen. 793
Lactomyces inflans caseigrana, Milchsucker vergärend. 232
 Lärche, geschädigt durch *Peziza Willkommii* R. H. 248
 Lärchenkrebspilz s. *Peziza Willkommii* R. H.
 Läuse, Blatt-, Bekämpfung durch Schmierseifenlösung. 377
 Läusestudien. 792
Lasioderma serricorne Fab., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
 Leaf-spot-disease s. Blattfleckenkrankheit der Kartoffel. 661
Lecanium Piri, Apfelbaumschädling. 777
Legnon crispum s. *Eriophyes tetratrichus*. 790
Lepidosaphes Ulmi s. *Mytilaspis pomorum*. 789
Leptoglossus oppositus Jay., Gurkensschädling. 787
Leptouromyces s. *Uromyces Pavoniae*. 780
 Leuchten der Pflanzen, Beobachtungen. 356
Leuconostoc mesenterioides in Säften der Zuckerfabriken. 648
Levure de Bière, therapeut. Verwertbarkeit. 233
Levurinose, therapeut. Verwertbarkeit. 233
 Licht, erzeugt durch Bakterien. 277
Lolium temulentum L., Symbiose mit dem sog. *Lolium-Pilz*. 657
Lonchaea lasiophthalma auf *Cynodon Dactylon*, Gallenbildung.
Loranthus, Schädling des Kakaobaumes. 250
Loxostege similalis Guen., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
 Lupinen, Stickstoffsammlung. 558
 Lupinensamen, Vergärung von Zucker. 562
Lyctus-Art, Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Lyngbya aestuarii, Wirt von *Resticularia Boodlei*. 235
 Lysimeterwasser, Stickstoffgehalt. 109
Macroductylus subspinosus Fab., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Macrodiplosis volvens auf *Quercus pedunculata* Ehrh., Gallenbildung. 790
Macrophoma Malorum (Berk.) Berl. et Vogl., Jugendform von *Sphaeropsis Malorum* Peck. 464
Macrosporium parasiticum Thüm. auf Zwiebeln. 777
 — *sarcinaeformae* auf Getreide und Futtergewächsen. 656
 — — auf Rotklee. 123
 — *Solani* s. *Alternaria Solani*. 239
 — — Ell. et Mart., Ursache der Blattfleckenheit der Kartoffel. 661
 Mälzen, Physiologie. 774
 Mäuse, Vertilgung durch den *Mäusetyphusbacillus*. 378
 —, Zuckerrübensschädling. 467
Mäusetyphusbacillus zur Mäusevertilgung. 378
Magdalinus Pruni L., Beziehung zum Obstbaumkrebs. 663
 Maischen, Funktion der Peptase. 560
 Maischprozeß, Entwicklung und Ausführung. 363
 Maischverfahren, neuere. 364
 Malz, Bestimmung der proteolytischen Kraft. 375
Marsonia Juglandis, Vorkommen in den Vereinigten Staaten. 656
 Meer, Vorkommen Stickstoff bindender Bakterien. 554
 Meerrettig, Infektion mit *Bac. oleraceae*. 186
 Meltau, Stachelbeer-, Verbreitung. 245
Melampsora Evonymi-incanae n. sp. Schneider, Biologie. 222
 — *Fagi* D. et Neg., Systematik. 243
 — *Larici-epitea*, Infektionsversuche. 653
 — — *nigricantis* n. sp. Schneider, Biologie. 223
 — — *purpureae* n. sp. Schneider, Biologie. 223
 — *Medusae* Thuem., Kulturversuche. 781
 — *populina*, Vorkommen in den Ver. Staaten. 656

- Melampsora Ribesii viminalis* Kleb. auf der Korkweide. 778
Melampsoren, Vorkommen an Weiden. 222
Melandrium pratense Röhl, Wirt von *Ustilago violacea* Pers. 783
Melanoplus atlantis, Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
 Melken, Bakteriengehalt der verschiedenen Particen. 281. 407
 Melonen, *Peronospora*-Krankheit. 466
 Meltau, falscher s. *Peronospora viticola*.
 Metallsalze, Wirkung auf die Entwicklung der Schimmelpilze. 139
Micrococcus acidi paralactici liquefaciens Kozai, Säuerung der Milch. 234
 — *agilis*, Farbstoffbildung. 105
 — *butyri fluorescens*, Vorkommen in Butter. 561
 — *casei liquefaciens*, Käseferment, Biologie. 436. 514
 — *flavescens*, Farbstoffbildung. 106
 — *lactis amari*, Vorkommen in frisch gemolkener Milch. 407
Microspira-Formen, Licht erzeugend. 227
 — —, Sulfatreduktion. 394
 Mikroben, Schwefelwasserstoffbildung. 385
 Mikroorganismen, Vorkommen in den Säften der Zuckerfabriken. 648
 Milbengallen, Vorkommen in Tirol. 790
 Milbenspinne s. *Tetranychus telarius*.
 Milch, Erhaltung roher steriler. 30
 Milch, Gerinnung. 234
 —, pasteurisierte, zur Käsebereitung. 109
 —, Sterilisierung durch Wasserstoff-superoxyd. 716
 —, Vorkommen von Anaëroben. 504. 589
 —, Zersetzung. 234
 Milchsäurehefe s. Hefe, Milchsäure-.
 Milchzucker vergärende Sproßpilze. 231
 Mineralwässer, Vorkommen von schwefelwasserstoffbildenden Mikroben. 385
 Mist, Vorkommen von Bakterien. 616
 Mohrrübe, Infektion mit *Bac. oleraceae*. 185
 Monilia-Arten, Vorkommen in chinesischer Hefe. 154
 — *fimicola* Cost. e Matr. auf *Agaricus campester*. 461
 — *Linhartiana* Sacc. s. *Stromatinia Linhartiana* Prill. et Del. 465
 — *variabilis*, Milchzucker vergärend. 232
Monophlebus Stebbingi Green, Vorkommen in Indien. 665
 Montanin, Desinfektionsmittel. 553
 Mortierella, Einfluß von Radium. 669
Mougeotia, Volutinkörner. 570
Mucor, Einfluß von Radium. 669
 — *hiemalis* Wehmer, Kugelzellenbildung und Gärung. 280
 — *javanicus*, Gärung. 277
 — *mucedo*, Atmung. 496
 — —, Gärung. 279
 — —, Vorkommen in Butter. 561
 — —, Zygosporienbildung. 571
 — *piriformis* A. Fischer, Kugelzellenbildung und Gärung. 280
 — *racemosus*, Atmung. 497
 — —, Vorkommen in chinesischer Hefe. 154
 — —, Wirkung von Metallsalzen. 140
 — *Rouxii*, Kugelzellenbildung und Gärung. 279
 — *spinosus*, Atmung und Gärung. 675
 — —, Kugelzellenbildung und Gärung. 279
 — —, Wirkung von Metallsalzen. 140
 — *stolonifer*, Atmung. 495
 Mückengallen, Vorkommen in Tirol. 790
 Mucoraceen, Atmung und Gärung. 490. 577
 Mucorineen, Zygosporienbildung. 570
Murgantia histrionica Hahn., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Mycelium x, Leuchten. 357
Mycoderma α, Verhalten in Hefe. 644
Mycoplasma des gelben Rostpilzes. 779
Mycorrhiza der Fichte. 785
 —, Vorkommen an den Luftwurzeln des Pfeffers. 775
Mycosphaerella aronici auf *Aronicum scorpioides*. 373
Myriangiopsis sulphurea P. Henn. n. gen., Systematik. 787
Myriangium mirabile P. Henn. n. sp., Morphologie. 787
 — *punctoideum* Rehm, Systematik. 788
 — *purpurascens* Rehm, Systematik. 788
 — (*Uleomyces*) *sanguineum* P. Henn., Systematik. 788
Mytilaspis pomorum, Apfelbaumschädling. 777
 — —, Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
 — *vitis*, Rebenschädling. 120
 Nährboden, gleichmäßige Zusammensetzung. 228
Naucoria nana n. sp. Petri, Sporenbildung. 240
Nectarophora granaria, Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Nectria cinnabarina, Ursache der Rostpustelkrankheit. 671
 — *ditissima* auf Äpfeln, Birnen und Quitten. 655

- Nectria ditissima*, Obstbaumkrebs, Bekämpfung. 251
 — — Tul., Ursache des Obstbaumkrebses. 662
Nematoden, Gurken-, Bekämpfung. 787
 —, Rüben-, Hafereschädling. 776
Neocerata rhodophaga Cog., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
 Nitrifikation s. Stickstoffbindung.
 — in der Ackererde. 706
 — im Boden. 109
 Nomenklatur, mykologische, Regelung. 652
Nymphopsocus destructor Enderl. n. sp., Wohnungsschädling. 667
Nysius angustatus, Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Nysius minutus, Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
 — parallelus, Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Obelidium mucronatum in leeren Phryganidennymphenhüllen. 236
Oberea ulmicola Chttn., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
 Obstbäume, Bekämpfung der Schorfkrankheit. 670
 —, geschädigt durch *Tettigonia viridis*. 474
 —, Krankheiten in Böhmen. 777
 —, Krebs. 251
 —, —, Ursache. 662
 Obstwein, Bereitung. 108
Ocnaria dispar s. *Bombix dispar*.
Oidium-Arten, Vorkommen bei der Flachsroste. 175. 314
 —, Verhalten in Hefe. 644
 — *graminis* von *Bromus chordaceus*, mögliche Wirtspflanzen. 245
 — — — *interruptus*, mögliche Wirtspflanzen. 245
 — — — *tectorum*, mögliche Wirtspflanzen. 246
 — *lactis*, Reifung der Limburger Käse. 702
 — —, Vorkommen in Butter. 560
 — —, Wirkung von Metallsalzen. 140
 — *Tuckeri*, Rebenschädling. 120
Oligotrochus Hartigi auf Linden, Gallenbildung. 790
Oligotrophus Pantanelli Kieff. auf *Juniperus communis*, Gallenbildung. 790
 Olivenkrankheit, verursacht durch *Stictis Panizzei*. 470
Olpidopsis Aphanomyces in leeren Phryganidennymphenhüllen. 236
Oospora fimicola s. *Monilia fimicola*. 462
Ophiobolus graminis auf Weizen. 373
 Orchideen, Wirt eines endophytischen Pilzes. 113
Orobranche ramosa auf Zuckerrüben, Flachs und Tabak. 656
Orthocraspeda trima, Schädling des Kakaobaumes. 250
Oscillaria, Vorkommen in Abwasseranlagen. 405
Otiorynchus ligustici, Rebenschädling. 120
 — *raucus*, Rebenschädling. 120
 — *sulcatus*, Rebenschädling. 120
Ovularia Lolii Volkart, Vorkommen auf *Lolium italicum*. 123
 — *necans* Passer. s. *Stromatinia Linhartiana* Prill. et Del. 465
 Oxydase, Vorkommen in Hefe. 647
 Oxydasen, Wirkung. 459
 Ozean, Atlantischer, Bakteriengehalt. 481
Papaipema nitela Guen., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Paraplectrum foetidum, Fettsäurenbildung. 754
 — —, Vorkommen in Milch. 600
Pediococcus damnosus, Erreger der Sarcinakrankheit des Bieres. 365
 — *perniciosus*, Erreger der Sarcinakrankheit des Bieres. 365
Pegomya Brassicae Bouché, Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
 — *cepetorum* Meade, Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
 — *fusiceps* Zett., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
 Pektinstoffe, chemische Untersuchung. 42. 171
Pemphigus follicularius auf *Pistacia terebinthus*, Gallenbildung. 790
 — *nidificus* F. Löw. auf *Fraxinus*, Gallenbildung. 790
 — *semilunarius* auf *Pistacia terebinthus*, Gallenbildung. 790
 — *vesicarius* auf *Populus nigra*, Gallenbildung. 790
Penicillium, Morphologie und Biologie. 770
 —, Verhalten in Hefe. 644
 — *album*, Reifung des Brieckäses. 694
 — *brevicaule*, Arsennachweis. 122
 — —, Beziehung zur Schwefelwasserstoffbildung. 389
 — — *Sacc.*, Morphologie und Biologie. 770
 — *glaucum*, Beziehung zur Schwefelwasserstoffbildung. 389
 — — *Lk.*, Morphologie und Biologie. 770
 — —, Reifung des Brieckäses. 694
 — —, Reifung des Roquefortkäses. 690
 — —, Ursache der „tache jaune“ des Korkes. 366
 — —, Vorkommen in Butter. 561
 — —, — in chinesischer Hefe. 154

- Penicillium italicum* Wehm., Morphologie und Biologie. 771
 — *luteum* Zuk., Morphologie und Biologie. 771
 — *olivaceum* Wehm., Morphologie und Biologie. 771
 — *purpurogenum* n. sp., Morphologie und Biologie. 771
 — *rubrum* n. sp., Morphologie und Biologie. 772
 Peptase, Funktion während des Keimens und Maischens. 560
Peridinium divergens, Leuchten. 356
Peritelus griseus Oliv., Hopfenschädling. 474
Perkinsiella saccharicida Kirk., Schädling des Zuckerrohres. 374
Peronospora, Rebenschädling, Vorkommen im Küstenlande. 114
 — *Cubensis* auf Cucurbitaceenblättern. 461
 — *effusa* Rabh. auf Spinat. 777
 — *parasitica* Tul., Vorkommen in Böhmen. 777
 — *Schachtii*, Zuckerrübenschädling. 467
 — *Schleideni* Ung. auf Zwiebeln. 777
 — *Schleideniana* auf Gurken und Küchengewächsen. 655
 — *trifoliorum*, Vorkommen auf Rotklee und Luzerne. 123
 — *viticola*, Rebenschädling. 120
 — -Krankheit der Melonen und Gurken. 466
Perrisia capitigena auf *Euphorbia cyparissias*, Gallenbildung. 121
 — *genisticola* auf *Genista tinctoria*, Gallenbildung. 121
 — *Taxi* auf *Taxus baccata*, Gallenbildung. 121
Peziza Willkommii R. H., Lärchenschädling. 248
 Pfeffer, Vorkommen von Mykorrhizen an den Luftwurzeln. 775
 Pflanzen, leuchtende, Beobachtungen. 356
 Pflanzenkrankheiten in Böhmen i. J. 1902. 776
 — im Küstenlande. 114
 — in Oesterreich. 461
 — pilzparasitäre, in Ungarn. 656
 — in den Vereinigten Staaten 1903. 655
Phaedon aeruginosa Suffr., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Phaeotriphragmium, Systematik. 785
Phloeotribus scarabaeoides Bernard, Olivenschädling, Vorkommen im Küstenlande. 115
Phoma Betae, Ursache des Wurzelbrandes der Rüben. 660
 — *Malorum* Sacc. s. *Macrophoma Malorum* (Berk.) Berl. et Vogl. 464
Phragmidium auf Zierpflanzen. 656
 — *affine* n. sp. auf *Potentilla Blaschkeana*. 654
 — *subcorticium* Schrank, Rosenschädling. 784
 Phryganiden, Nymphenhüllen, Wirte von Phycomyceten. 236
Phycomyces niteus, Zygosporienbildung. 571
 Phycomyzeten, Fruktifikation. 769
 —, Vorkommen in den Hüllen der Phryganidennymphen. 236
Phyllachora Trifolii, Vorkommen in den Ver. Staaten. 656
Phyllerium Celtidis auf *Celtis australis*, Gallenbildung. 790
Phyllosticta, Vorkommen in den Ver. Staaten. 656
 — *aronici* auf *Aronicum scorpioides*. 373
 — *Betae* auf Zuckerrüben. 469
 — *cucurbitacearum* Sacc. auf Gurken. 786
 — *hortorum* auf Tomaten. 655
 — *phaseolina* auf Gurken und Küchengewächsen. 656
Phymatosphaeria argentina Speg., Systematik. 788
 — *calami* Rac., Systematik. 788
Physalospora Cattleayae auf *Cattleya Mossia*. 785
Physopus atrata Halid., Zuckerrübensschädling. 791
 — *rubrocinctus*, Schädling des Kakao- baumes. 250
Phytophthora infestans auf Kartoffeln. 463. 655
 — —, Kultur. 239
 — *omnivora*, Schädling des Kakao- baumes. 250
 — *phaseoli* auf Gurken und Küchengewächsen. 656
Phytoptus Pyri, Vorkommen in Böhmen. 777
 — *Ribis* auf Johannisbeeren in Böhmen. 777
 — *vitis*, Rebenschädling. 120
 — —, Rebenschädling in Böhmen. 777
Picea morinda Link., Schädlinge. 665
 Pilze, Aenderungen der Farben. 129. 257
 —, Einfluß des Radium auf die Entwicklung. 669
 Pilz, endophytischer, der Orchideen. 113
 Pilze, höhere, Sexualität. 455
 —, Mißbildungen. 793
 —, Oeltröpfchen im Kerne. 646
 —, Rost-, entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen. 653
 —, Vorkommen von Amide spaltenden Enzymen. 230
 — Vorkommen in Japan. 782
Pinus excelsa Wall., Schädlinge. 665

- Pithrocephalis, Einfluß von Radium. 669
 Piqure des Korkes, Ursache. 366
 Pissodes harcyniae, Bekämpfung. 794
 — piceae, Bekämpfung. 794
 Plasmodiophora Brassicae Wor., Vor-
 kommen in Böhmen. 777
 Plasmopara cubensis, Cucurbitaceen-
 schädling, Vorkommen in Oesterreich. 658
 — — — — — Humphr. auf Gurken. 786
 — — — — — viticola auf Beerenfrüchten. 655
 — — — — — Rebenschädling in Böhmen. 777
 Plectridium pectinovorum n. sp. Störmer,
 Erreger der Flachsröste, Morphologie. 181
 — — — — —, Erreger der Flachsröste,
 Physiologie. 182. 306
 — — — — —, Ursache des Faulens der
 Erbsen bei der Keimung. 326
 — — — — —, Vergärung von Kohlehy-
 draten. 307
 — — — — —, Verhalten gegen N-haltige
 Stoffe. 183. 306
 Plektriden, Vorkommen bei der Flach-
 sröste. 175
 Polyporus agaricinicola, eine Mißbildung
 der Collybia dryophila. 793
 — annosus, Ursache der Rotfäule der
 Fichte. 785
 — fulvus auf Pflaumenbäumen. 664
 — hirsutus, Ursache der Zersetzung des
 Rotbuchenholzes. 368
 — versicolor, Ursache der Zersetzung
 des Rotbuchenholzes. 368
 Poria vaporaria, Ursache der Rotfäule
 des Buchenholzes. 368
 Preßhefe s. Hefe, Preß-
 Proliferation, Blüten-, bei Rosen. 778
 Prosperoiden, Morphologie. 240
 Prunus domestica, Ursache der Bitter-
 fäule. 664
 Pseudocommis Vitis auf Kartoffeln. 463
 Pseudomonas campestris, Rübenschäd-
 ling. 778
 — Juglandis, Vorkommen in den Ver.
 Staaten. 656
 — phaseoli auf Gurken und Küchen-
 gewächsen. 656
 — Stewarti, Ursache der Bündelkrank-
 heit des Maises. 733
 — vascularum, Ursache der Gummi-
 krankheit des Zuckerrohres. 731
 Pseudoperonospora cubensis Rost. s.
 Plasmopara cubensis Humphr. 786
 — — — — —, Krankheit der Melonen und Gurken. 466
 Pseudopeziza Medicaginis, Vorkommen
 in den Ver. Staaten. 656
 — Trifolii, Vorkommen auf Rotklee und
 Luzerne. 123
 Psila rosae Fab., Vorkommen in den
 Ver. Staaten. 789
 Psylla pyricola Forst., Vorkommen in
 den Ver. Staaten. 789
 Pterospermum platanifolium, Rinden-
 hypertrophie. 249
 Pthirocoris antarcticus n. sp., Vor-
 kommen auf den Crozetinseln. 668
 Puccinia auf Polygonum viviparum, In-
 fektionsversuche mit Uredosporen. 535
 — Aegopodii (Schum.) Mart., Infektions-
 versuche mit Teleutosporen. 531
 — albiperidia Arth., Kulturversuche. 781
 — amphigena Diet., Kulturversuche. 781
 — Andropogonis Schw., Kulturversuche. 781
 — — — — —, Angelicae (Schum.) Fuck., Infektions-
 versuche mit Uredosporen. 446
 — — — — —, -mamillata, Beschreibung. 542
 — Antirrhini Diet. et Hobr. auf Antir-
 rhinum majus. 243
 — athamanthina Sydow, Infektionsver-
 suche mit Aecidio- und Uredosporen. 342
 — Bakeriana Arth. II und III auf
 Heracleum lanatum. 780
 — Brunellarum-Moliniae, Beziehung zu
 Aecidium Brunellae Winter. 96
 — bullata (Pers.), Versuche mit Uredo-
 sporen. 528
 — Canadensis Arth. III auf Viola or-
 biculata. 780
 — Cari-Bistortae Klebahn, Infektions-
 versuche mit Uredosporen. 534
 — caulicola Tr. et Hall., Kulturver-
 suche. 782
 — Chaerophylli Purt. von Anthriscus
 silvestris, Infektionsversuche mit Aeci-
 diosporen. 219
 — — — — —, Infektionsversuche
 mit Teleutosporen. 217
 — — — — —, Infektionsversuche
 mit Uredosporen. 215
 — — — — — von Chaerophyllum aureum,
 Infektionsversuche mit Aecidiosporen. 339
 — — — — —, Infektionsversuche
 mit Teleutosporen. 339
 — — — — —, Infektionsversuche
 mit Uredosporen. 220. 338
 — coronata, Vorkommen auf Wiesen-
 schwingel. 123
 — Diplachnis Arth. II. und III. auf
 Diplachne dubia. 780
 — Eatoniae Arth., Kulturversuche. 782
 — endivae auf Gurken und Küchengewächsen. 656
 — glumarum, Mykoplasma. 779
 — — (Schm.) Eriks. und Henn. auf
 heranwachsenden Weizenpflanzen. 371
 — Helianthellae Arth. II und III auf
 Helianthella Nevadaensis. 780

- Puccinia Helianthi* Schw., Kulturversuche. 781
 — *hydnoidea* (B. et C.) Arth., Kulturversuche. 782
 — *Impatientis* (Schw.) Arth., Kulturversuche. 781
 — *Libanotidis* Lindr., Infektionsversuche mit Teleutosporen. 444
 — — —, Infektionsversuche mit Uredosporen. 445
 — *mamillata* Schroet., Infektionsversuche mit Teleutosporen. 537
 — *Mei-mamillata* Sem., Beschreibung. 541
 — *Menthae* Pers., Infektionsversuche. 95
 — *Orchidearum* Digraphidis Kleb., Infektionsversuche. 653
 — *Oreoselini* (Strauss) Fuck., Infektionsversuche mit Uredosporen. 345
 — *Parnassiae* Arth. III auf *Parnassia fimbriata*. 780
 — *Petroselini* (DC.) Lindr., Infektionsversuche mit Teleutosporen. 349
 — — —, Infektionsversuche mit Uredosporen. 347. 439
 — *Pimpinellae* (Strauss) Mart., Infektionsversuche mit Aecidien. 81. 214
 — — —, Infektionsversuche mit Teleutosporen. 80
 — — —, Infektionsversuche mit Uredosporen. 78
 — *Pozzii* Semadini n. sp., Beschreibung. 532
 — *Prenanthidis* auf *Cichorium Endivia*. 471
 — *pustulata* (Curt.) Arth., Kulturversuche. 782
 — *Sieversiae* Arth. III. auf *Sieversia turbinata*. 780
 — *Stachydis* DC., Formenkreis. 96
 — *Stipae* (Op.) Hora, Formenkreis. 113
Pucciniaceen, Verwandtschaftsverhältnisse. 242
Puccinien, Vorkommen auf Umbelliferen. 73. 214. 338. 439. 527
Pulvinaria vitis, Rebenschädling. 120
Pyralis vitana, Rebenschädling. 120
Pyronema confluens, Karyokinese. 455
Pythium-Art auf *Cattleya Mossia*. 785
 — *de Baryanum* Hesse auf Gurken. 786
Quecke, Vertilgung. 575
Radenkornkrankheit der Spelzpflanzen. 372
Radium, Einfluß auf die Entwicklung niederer Pilze. 669
Ramularia Betae auf Zuckerrüben. 468
 — *necans* s. *Stromatinia Linhartiana* Prill. et Del. 465
Raubbau, Anwendung. 651
Rauchgase, Schädigung von Gurken. 787
Ravenelia Caesalpiniae Arth. O. II u. III auf *Caesalpinia*-Arten. 780
 — *Portoricensis* Arth. II auf *Cassia emarginata*. 780
Rebe, geschädigt durch *Ithyophallus* und *Coepophagus*. 471
 — „*verrues*“, Vorkommen. 473
Rebenschildlaus s. *Pulvinaria vitis*.
Rebenstecher s. *Rhynchites betuleti*. 120
Reblauskrankheit, Bekämpfung. 115
Reolkapseln, therapeut. Verwertbarkeit. 233
Resticularia Boodlei n. sp. Fritsch auf *Tolypothrix*. 235
 — *nodosa* Dang. auf *Tolypothrix*. 235
Rhabarber, Infektion mit *Bac. oleraceae*. 187
Rhabdium acutum Dang. s. *Harpochytrium Lagerheim*. 238
Rhagoletis pomonella Walsh., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Rhizoclostridium globosum n. gen. et sp. Petersen, Morphologie. 236
Rhizoctonia auf Gurken und Küchengewächsen. 655
 — auf Kartoffeln. 655
 — auf Tomaten. 655
 — auf Zuckerrüben, Flachs und Tabak. 656
 — *violacea*, Spargelschädling. 463
 — —, Zuckerrübenschädling. 467. 776
 — — Tul. auf Zuckerrüben, Bekämpfung. 469
Rhizopus chinensis n. sp. Saito, Morphologie und Biologie. 155
 — — —, Vorkommen in chinesischer Hefe. 154
 — *nigricans*, Gärung. 279
 — —, Zygosporienbildung. 571
 — *Oryzae* Went. u. Pr. Geerl., Kugelnzellenbildung und Gärung. 280
 — *tonkinensis*, Kugelnzellenbildung und Gärung. 279
 — *tritici* n. sp. Saito, Morphologie und Biologie. 157
 — — —, Vorkommen in chinesischer Hefe. 154
Rhombenspanner, Auftreten in Deutschland. 120
Rhynchites betuleti, Rebenschädling. 120
Ribes alpinum, Ursache der Blattfleckenkrankheit. 249
Riesenbastkäfer s. *Hylesinus micans*. 475
Roosche Tabletten, therapeut. Verwertbarkeit. 233
Rosen, geschädigt durch *Phragmidium subcorticium* Schrank. 784
Rost, gelber, vegetativer Apparat. 780
Rostpilze s. *Melampsoren*.

- Rostpilze s. Pilze, Rost-.
 — s. a. Uredineen. 780
 —, Vorkommen auf Leguminosen. 242
 Rotbuchenholz s. Holz, Rotbuchen-.
 Rotfäule der Zuckerrübe, Bekämpfung. 469
 — der Zuckerrüben, Erreger. 467
 Rotpustelkrankheit der Bäume, verursacht durch *Nectria cinnabarina*. 671
 Rüben, geschädigt durch *Pseudomonas campestris*. 778
 Rübe, Infektion mit *Bacillus oleraceae*. 49
 —, Wurzelbrand. 660
 Rüsselkäfer, Bekämpfung. 795
 Runkelfliege s. *Anthomyia conformis*. 467
 Rußtau s. *Capnodium salicinum*.
 —, Bekämpfung durch Schmierseifenlösung. 377
Saccharomyces acidi lactici Grotenfelt, Milchzucker vergärend. 232
 — *capsularis* n. sp. Klöcker, Sporen. 107
 — *cerevisiae*, Gaswechsel. 354
 — *fragilis* n. sp. Jörgensen, Milchzucker vergärend. 232
 — Kefir Beijerinck, Milchzucker vergärend. 232
 — *lactis*, Milchzucker vergärend. 232
 — *membranaefaciens*, Gärung und Atmung. 24
 — —, Gaswechsel. 354
 — Pombe, Gaswechsel. 354
 — *Saturnus* n. sp. Klöcker, Morphologie und Biologie. 108
 — *Tyrocola*, Milchzucker vergärend. 232
Saccharomyceten, Milchzucker vergärend. 232
 —, Volutingehalt. 570
Sachsia albicans, Milchzucker vergärend. 232
 — *suaveolens*, Milchzucker vergärend. 232
 Säurebildung durch Bakterien. 560
 Sahne, Säuerung durch flüssige Milchsäurehefen. 109
 Salpetergehalt im Lysimeterwasser, Bestimmung. 109
 Samen, Bakterienflora. 56. 198
Saperda tridentata Ol., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Sarcina in Säften der Zuckerfabriken. 649
 —, Vorkommen im Gärkeller. 775
 — *aurantiaca*, Vorkommen im Abwasser. 405
 — *liquefaciens*, Farbstoffbildung. 106
 — *lutea*, Vorkommen im Abwasser. 405
 Sarcinakrankheit des Bieres, Erreger. 365. 459
 Sauerwurm, Auftreten in Deutschland. 120
 Sauerwurm, Bekämpfung. 795
 Scheermaus, Zuckerrübenschädling. 467
 Schimmelpilze, Atmung und Gärung in Rollkulturen. 673
 —, Beeinflussung der Entwicklung durch ihre Stoffwechselprodukte. 773
 —, Vorkommen in Kleie. 561
 —, Wirkung von Metallsalzen und Alkoholen auf die Entwicklung. 139
Schizoneura lanigera, Apfelbaumschädling. 777
 — — H., Beziehung zum Obstbaumskrebs. 663
 — — —, Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Schizophyllum commune, Ursache des falschen Kernes des Rotbuchenholzes. 367
Schizoaccharomyces Pombe, Gärung und Atmung. 22
Schizostega, Leuchten. 356
 Schlamm einer Begräbnisstätte, Bakterienfunde. 112
 Schmierseifenlösung zur Bekämpfung der Blattläuse und des Rußtaues. 377
 Schorfkrankheit der Obstbäume, Bekämpfung. 670
 Schwefelkohlenstoff, Einwirkung auf das Pflanzenwachstum. 573
 Schwefelwasserstoff, Bildung durch Mikroben. 385
Sciara inconstans Fitch., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Sclerospora graminicola (Sacc.) Schroet., Fruktifikation. 769
 — *macrospora* Sacc. in Blütenständen von *Zea Mays*. 778
Sclerotinia auf Pfirsichen. 655
 — *bulborum* s. *Sclerotium cepivorum*. 777
 — *Cydoniae* Schellenberg s. *Stromatinia Linhartiana* Prill. et Del.
 — *fructigena* (Aderhold), Zugehörigkeit zu *Monilia fructigena*. 465
 — — (Pers.) Schroet., Zugehörigkeit zu *Monilia cinerea*. 465
 — *Libertiana* Fuck. auf Gurken. 786
 — — auf *Lupinus angustifolius*. 671
 — *Nicotianae* n. sp. Oud. et Kon., Tabakschädling. 662
 — *trifoliorum*, Kleekrebs, Entwicklung. 670
 — —, Vorkommen in Böhmen. 776
Sclerotium cepivorum Berk. auf *Allium sativum* L. 239
 — — auf Zwiebeln. 777
Scolytus, Vorkommen in Indien. 665
 — *rugulosus* Ratz., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
 Sellerie, Infektion mit *Bac. oleraceae*. 186

- Septoria cucurbitacearum* Sacc. auf Gurken. 786
 — *Dianthi*, Vorkommen in den Ver. Staaten. 656
 — *lycopersici* auf Tomaten. 655
 — *parasitica* R. H., Vorkommen. 474
 — *ribis* auf Beerenfrüchten. 655
Sesia myopaeformis Bkh., Beziehung zum Obstbaumkrebs. 663
Shorea robusta Grtn., Schädlinge. 665
Simulia columbaczensis, Vorkommen in Nordwestdeutschland. 375
 — *reptans*, Vorkommen in Nordwestdeutschland. 375
Sinoxylon sexdentatum Oliv., Feigenschädling, Vorkommen im Küstengebiet. 114
Siphonaria variabilis n. gen. et spec. Petersen, Morphologie. 236
Sorosporium contortum auf *Andropogon contortus*. 783
 — *Eriochloae* auf *Eriochloae punctata*. 783
 Spargel, geschädigt durch *Rhizoctonia violacea*. 463
 —, Infektion mit *Bac. oleraceae*. 186
 Spelz, Mißbildung. 372
Sphacelia Allii Voglino auf *Allium sativum*. 239
Sphaceloma ampelinum, Rebenschädling. 121
Sphaerella rubina auf Beerenfrüchten. 655
Sphaeronema auf Zuckerrohr. 730
Sphaeropsis malorum auf Äpfeln, Birnen und Quitten. 655
 — — *Peck*, Obstschädling. 463
Sphaerotheca Castagnei, Karyokinese. 455
 — *mali* Burill, Vorkommen in Böhmen. 777
 — *mors uvae* auf Beerenfrüchten. 655
 — — — [Schwein.] Berk. et Curt., Verbreitung. 245
 — *pannosa* Lév., Meltau auf Gurken. 786
 — — auf Pfirsichen. 655
 — — Wallr., Rosenschädling. 784
Spinellus fusiger, Zygosporienbildung. 570
Spirillum Finkler-Prior, Farbstoffbildung. 106
Sporangioli, Morphologie. 240
Sporidesmium auf Gurkenblättern. 786
 — *exitiosum* var. *Solani* auf den braunen Blattflecken der Kartoffeln. 662
Sporodinia grandis, Zygosporienbildung. 570
 Springwanze, rotköpfige s. *Halticus saltator*. 787
 Springwurm, Auftreten in Deutschland. 120
 Springwurmwickler s. *Tortrix pilleriana*.
 Sproßpilze, Milchwasser vergärende. 231
Stagonospora Trifolii Fautr., Vorkommen auf Weißklee. 123
Steirastoma depressum, Schädling des Kakaobaumes. 250
 — *histrionicum*, Schädling des Kakaobaumes. 250
Stereum lilacinum, Ursache der Zersetzung des Rotbuchenholzes. 367
 — *purpureum*, Ursache des falschen Kernes des Rotbuchenholzes. 367
 — *violaceum*, Ursache der Zersetzung des Rotbuchenholzes. 367
Sterigmatocystis Ficuum (Reich.) Herm., Erreger des Feigenbrandes. 466
 — *Phoenicis* (Corda) Pat. et Delacr., Erreger des Dattelbrandes. 466
 — *versicolor*, Biologie. 460
 — —, Farbenänderung. 461
 — —, Farbstoffbildung. 276
 Sterilisierung der Milch durch Wasserstoffsuperoxyd. 716
Stichospora Madiæ n. sp. auf *Madia sativa*. 654
 Stickstoffbindung s. a. Nitrifikation.
 — durch Bakterien, 360. 455. 554. 557
 — im Boden. 559
 — durch Bodenbakterien. 110
 Stickstoff, Boden-, Nitrifikation. 109
 —, Luft-, Nutzbarmachung für die Pflanzen. 455. 457
 — sammelnde Bakterien. 650
 —, Wurzel-, von Leguminosen, Nachwirkung auf andere Kulturgewächse. 457
 Stickstoffsammlung von Lupinen, Einfluß der Bodenfeuchtigkeit. 558
Stictis Panizzei de Not., Ursache der „brusca“ der Oliven. 470
Stilbum flavidum auf Kaffee. 656
 Streifenkäfer s. *Diabrotica vittata* Fab. 787
Streptococcus pyogenes, Farbstoffbildung. 106
Stromatinia Linhartiana Prill. et Del. auf Quitten, Systematik. 465
 Tabak s. auch *Nicotiana*.
 —, Erreger der „Wilt“-Krankheit. 327
 —, geschädigt durch *Sclerotinia* Oud. et Kon. 662
 Tache jaune des Korkes, Ursache. 366
Taphrina rhaetica n. sp. Volkart auf *Crepis blattarioides*. 373
Tarsonemus spirifex, Schädling des Hafers. 374
Tectona grandis L., Schädlinge. 665
Tetraneura rubra auf *Ulmus campestris*, Gallenbildung. 790
Tetranychus, Gürkenschädling. 787

- Tetranychus bimaculatus* Harv., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
 — *telarius* auf Erbsen. 776
 — — auf Gurken. 777
 — —, Rebenschädling. 120
Tettigonia viridis L., Obstbaumschädling. 474
Texoptera graminum Rond., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Thamnidium, Einfluß von Radium. 669
Thecaphora Thornberi auf *Clathorix lanuginosa*. 782
Thelaviopsis, Vorkommen an *Podocarpus*-Wurzelknochen. 241
Thielavia basicola auf Zuckerrüben, Flachs und Tabak. 656
Thrips, Ursache einer Getreidehalmmißbildung. 666
 — *communis* Uzel, Zuckerrübenschädling. 791
 — *tabaci* Lind., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Thysanophoren, Schädling der Zuckerrübe in Böhmen. 791
Tilia parvifolia, geschädigt durch *Gloeosporium tiliae* Allescher. 788
Tilletia, Mikrosporen in den Sporangien von *Rhizocarpus natans*. 778
 — *Wilcoxiana* auf *Stipa eminens* var. *Andersonii*. 782
Tolypothrix, Wirt von *Reticularia*. 235
 Tomate, Infektion mit *Bac. oleraceae*. 186
Tortrix ambignella Hüb., Bekämpfung. 795
 — —, Rebenschädling. 120
 — *amplana* s. *Carpocapsa amplana*.
 — *pilleriana* H., Bekämpfung. 795
 — —, Rebenschädling. 120
Torula amara, Milchwurmer vergärend. 232
 — *Duclaux*, Milchwurmer vergärend. 232
 — —-Formen, Milchwurmer vergärend. 231
 — —-Hefe, Vorkommen in Butter. 560
Trametes, *mollis*, Ursache der Rotfäule des Buchenholzes. 368
 — *stereoides*, Ursache der Rotfäule des Buchenholzes. 368
 Traubenwurm, Auftreten in Deutschland. 120
Tremella faginea, Ursache des falschen Kernes des Rotbuchenholzes. 367
 — *mycetophila* Perk., eine Mißbildung der *Collybia dryophila*. 793
Tribolium confusum, Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
 — *ferrugineum*, Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Trichaulus vituli, Morphologie. 792
Trichoderma Koningi Oud., Rolle bei der Humifikation. 235
Trichothecium roseum Link, Ursache der Bitterfäule der Früchte. 664
 — —, Wirkung von Metallsalzen. 140
Triphragmium, Monographie. 784
 — *Cedrelae*, Systematik. 785
 — *clavellum*, Systematik. 785
 — *echinatum*, Systematik. 785
 — *Filipendulae*, Systematik. 785
 — *Isopyri*, Systematik. 785
 — *pulchrum*, Systematik. 784
 — *setulosum*, Systematik. 784
 — *Thwaitesii*, Systematik. 784
 — *ulmariae*, Systematik. 785
 Trypsin, Beziehung zum Erepsin. 231
 Tuberkelbacillen, Vorkommen in Butter. 560
 Tulpe, geschädigt durch *Botrytis parasitica*. 786
Tylenchus scandens auf Spelzpflanzen. 372
Tyloderma fragariae Ril., Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Typhlocyba comes, Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
 — *vitis*, Rebenschädling. 120
Typophorus canellus, Vorkommen in den Ver. Staaten. 789
Tyrophthrix distorta, Farbstoffbildung. 106
 — *tenuis*, Bildung von Acetylmethylcarbinol. 229
Uleomyces s. *Myriangium sanguineum*. 788
 Umbelliferen, Wirte von Puccinien. 73. 214. 338. 439. 527
 Uredineen, Apparat vegetativer. 779
 —, Arten neue. 653. 780
 —, Kultur auf Labiaten. 95
 —, Kulturversuche im Jahre 1903. 781
 —, Vorkommen in Japan. 782
Uredinopsis Atkinsonii P. Magnus auf *Aspidium Thelypteris*. 783
 — *Copelandi* n. sp. auf *Athyrium Cyclosorum*. 654
 — *mirabilis* P. Magnus auf *Onoclea sensibilis*. 783
 — *Osmundae* P. Magnus auf *Osmunda cinnamomea*. 783
Uredo Copelandi n. sp. auf *Arctostaphylos patulae*. 654
 — *dispersa*, Vorkommen auf Roggen. 371
 — *laeviuscula* D. et H. Teleutosporenform. 242
 — *Pasadenae* n. sp. auf *Gymnogramme triangulare*. 654
 — *superior* Arth. II auf *Fimbristylis spadicea*. 780
Urocystis cepulae auf Gurken und Küchengewächsen. 655
 — — auf Zwiebeln. 776

- Uromyces Antholyzae* n. sp. auf *Antholyza abyssinica*. 653
 — *appendiculatus* auf Gurken und Küchengewächsen. 656
 — *Betae*, Zuckerrübenschädling. 776
 — *caryophyllinus* auf Zierpflanzen. 656
 — *Hellerianus* Arth. II und III auf *Cayaponia racemosa*. 780
 — *Lespedezae-procumbentis* (Schw.) Curt., Kulturversuche. 782
 — *Melasphaerulae* n. sp. auf *Melasphaerula graminea*. 653
 — *nyikensis* n. sp. auf *Gladiolus nyikensis*. 653
 — *Pavoniae* Arth. III. auf *Pavonia racemosa*. 780
 — *phaseoli* auf Futtergewächsen. 656
 — — (Pers.) Wint., Kulturversuche. 781
 — *Pisi* (Pers.), Infektion von *Euphorbia Cyparissias* mit auf *Lathyrus pratensis* vorkommenden Teleutosporen. 65
 — — —, Infektion von *Euphorbia Cyparissias* mit auf *Vicia Cracca* vorkommenden Teleutosporen. 68
 — *Solidagini-Caricis* Arth., Kulturversuche. 782
 — *Sophorae flavescens* n. sp. Kusano auf *Soph. flavescens*. 782
 — — *japonicae* Dietel, Vorkommen in Japan. 782
 — *Sparaxidis* n. sp. auf *Sparaxis lineata*. 653
 — *Trifolii*, Vorkommen in den Ver. Staaten. 656
 — *truncicola* P. Henn., Vorkommen in Japan. 782
Urophlyctis Alfalfae, Vorkommen auf Luzerne. 123
 — *hemisphaerica* (Speg.) Sydow, Identität mit *Uromyces hemisphaericus*. 654
Ustilagineen, Volutingehalt. 570
Ustilago calcara auf *Bouteloua brevisetia*. 782
 — *Ficum* s. *Sterigmatocystis Ficum*.
 — *hordei*, Vorkommen in Böhmen. 776
 — *lycuroides* auf *Lycurus phleoides*. 782
 — *Maydis*, Vorkommen in Böhmen. 776
 — *Phoenicis* s. *Sterigmatocystis Phoenicis*.
 — *Scolochloae* auf *Scolochloa festucae*. 782
 — *violacea* Pers., Lebensweise des *Mycelium*. 783
Venturia inaequalis auf Äpfeln, Birnen und Quitten. 655
Vermicularia circinans Berk. auf Zwiebeln. 777
 — *trichella* auf Zierpflanzen. 656
 „Verrues“ der Reben, Vorkommen 473
Vitis vinifera, Karnifikation der Blüten. 461
Volutin, Verbreitung, Morphologie und Chemie. 569
Wasser des atlant. Ozeans, Bakteriengehalt. 481
 —, Brunnen-, Gehalt an *Crenothrix polyspora*. 106
 —, Vorkommen Stickstoff bindender Bakterien. 554
Wasserröste des Flachses. 35. 171. 306
Wasserstoffsuperoxyd zur Sterilisierung der Milch. 716
Weide, Wirt von *Melampsoren*. 222
Wein, Obst-, Bereitung. 108
Weinblattmilbe s. *Phytoptus vitis*.
Weinrebe, Krankheiten in Böhmen. 777
Weinschwärmer, Rebenschädling. 120
Weinstockzikade s. *Typhociba vitis*.
Weinstockfallkäfer, Auftreten in Deutschland. 120
Weizensamen, Flecke, verursacht durch *Cladosporium herbarum* Link. 779
Würzeleitung, Infektion. 365
Wurzelälchen s. *Anguillula radiculicola*.
Wurzelbrand der Rüben, Bekämpfung. 660
 — der Zuckerrübe, Bekämpfung. 468. 469
 — der Zuckerrübe in Böhmen. 776
Wurzelkropf der Zuckerrüben, Vorkommen. 468
Wurzelschimmel s. *Dematophora necatrix*.
Xanthotriphragmium, Systematik. 784
Xenodochus ligniperda, Ursache des falschen Kernes des Rotbuchenholzes. 367
Xylopertha pustulata F., Feigenschädling, Vorkommen im Küstengebiete. 114
Zabrus gibbus, Getreideschädling. 776
Zaghouania Phillyreae (DC.) Pat., Morphologie. 242
Zaratha cramerella, Schädling des Kakao-baumes. 205
Zea Mays, Wirt von *Sclerospora macrospora* Sacc. 778
Zencera coffeae, Schädling des Kakao-baumes. 250
Zooecidien, Vorkommen in Tirol. 790
Zucker, Vergärung durch Pflanzensamen. 562
Zuckerfabrik, *Crenothrix* im Luftpumpenwasser. 648
Zuckerfabriken, Mikroorganismen in den Säften. 648
Zuckerrohr, geschädigt durch *Perkinsiella saccharicida* Kirk. 374
 —, Ursache der Cobbschen Krankheit. 729

- Zuckerrübe, geschädigt durch Thysanopteren. 791
 —, Infektion mit *Bac. oleraceae*. 186
 —, Krankheiten in Böhmen. 468. 776
 —, Krankheiten in Mitteldeutschland. 467
 —, Wurzelbrand, Bekämpfung. 469
 Zwetschenbäume, Polyporus-Schaden, Bekämpfung. 664
 Zwiebel, Infektion mit *Bac. oleraceae*. 187
 Zwiebeln, Krankheiten in Böhmen. 776
 Zygorrhynchus Mölleri, Zygosporienbildung. 570
 Zygosporien, Bildung bei Mukorineen. 570
 Zymin, Gaswechsel. 354. 583
 —, therapeutische Verwertbarkeit. 233

III. Verzeichnis der Abbildungen.

- Abwasser, Anlage in Iowa. 396. 398. 400. 401
 Apfel, Danziger, Fäulnispilze (Taf. I). 338
 —, —, faulend (Taf. I, Fig. 1). 338
 Aspergillus niger, Atmung, Kurven. 683
 Bacillus Berestnewi, Mycel septiertes. 18
 —, —, Mycel unseptiertes. 19. 21
 — denitrificans agilis, Agarstrichkultur (Taf., Fig. 1). 10
 — —, Geißeln (Taf., Fig. 2). 10
 — oleraceae, Geißelfärbung (Taf. V, Fig. 12). 198
 — —, Gelatinekolonie (Taf. V, Fig. D). 198
 — oxalaticus, Geißeln (Taf., Fig. 3). 10
 — —, Gelatineplattenkolonie. 6
 — —, Rosenkranzformen (Taf., Fig. 4). 10
 — — Schwärmer (Taf., Fig. 6). 10
 — —, Schwärmer, heraustretende (Taf., Fig. 8). 10
 — —, Sporen (Taf., Fig. 5). 10
 — —, Zellen und Sporen (Taf., Fig. 1). 10
 — —, Zellfaden (Taf., Fig. 7). 10
 Blumenkohl, geimpft mit *Bac. oleraceae* (Taf. I, Fig. 2 u. 4). 198
 —, geimpft mit *Bac. oleraceae*, Querschnitt (Taf. IV, Fig. 9 u. 10). 198
 —, geimpft mit *Bac. oleraceae*, Schnitt (Taf. III, Fig. 8). 198
 —, Pflanze, gesunde (Taf. I, Fig. 1). 198
 —, Querschnitt, Bakterien in den Interzellularräumen (Taf. VI, Fig. A). 198
 —, —, Schwellung der Zellwände (Taf. VI, Fig. B; Taf. V, Fig. C). 198
 Gärungsgase, Apparat zur Ansammlung. 767
 Gloeosporium Ribis, Konidien. 83
 Hefe, Amöbenform (Taf., Fig. 10. 11). 153
 —, Riesenkolonien, Wachstum auf festen Nährböden (Taf. I u. II). 449
 —, Rundzelle (Taf., Fig. 5. 6). 153
 —, Rundzelle mit Vakuole (Taf., Fig. 7). 153
 Hefe, Zellen, abnorme (Taf., Fig. 3). 153
 —, Zellen mit doppelter Zellhaut (Taf., Fig. 4). 153
 —, Zellen, leere (Taf., Fig. 2). 153
 —, Zellen, normale (Taf., Fig. 1). 153
 —, Zelle, unregelmäßige (Taf., Fig. 8. 9). 153
 Hypocrea rufa, Kultur auf Glukose und Knop. 264
 — —, Kultur auf Pepton, Glukose und Weinsäure. 265
 — —, Kultur, Zonenbildung. 134
 — —, Sporen, Sporenkeimung, Mycel. 132
 — —, Wachstumsformen, verschiedene. 136
 — —, Wachstum bei verschiedenen Konzentrationen von Glukose. 258
 Kernobstfäule (Taf. I u. II). 338
 Laboratorium, bakteriologisches auf dem Liebefeld bei Bern. 632. 633. 634. 636. 638. 639
 Mucor javanicus, Kugelhefebildung. 278
 — mucedo, Atmung, Kurven. 502. 503. 578
 — racemosus, Atmung, Kurven. 579. 580. 581
 — Rouxii, Kugelzellen. 278
 — spinosus, Atmung, Kurven. 675 678
 — stolonifer, Atmung, Kurven. 500
 Puccinia Angelicae-mamillata, Teleutosporen. 542
 — — —, Uredosporen. 542
 — Mei-mamillata Sem., Teleutosporen. 542
 — — — —, Uredosporen. 541
 — Pozzi Sem. n. sp., Teleutosporen. 533
 Rhizopus chinensis n. sp., Gemmen (Taf. I, Fig. 10). 160
 — — —, Columella (Taf. I, Fig. 8). 160
 — — —, Sporangienträger (Taf. I, Fig. 2—6). 160
 — — —, Sporangium (Taf. I, Fig. 7). 160
 — — —, Sporen (Taf. I, Fig. 9). 160

Rhizopus Tritici n. sp., Columella (Taf. II, Fig. 7).	161	Rübe, weiße, geimpft mit Bac. oleraceae (Taf. II, Fig. 5—7).	198
— — —, Gemmen (Taf. II, Fig. 11).	161	—, weiße, geimpft mit Bac. oleraceae, Querschnitt (Taf. V, Fig. 11).	198
— chinensis n. sp., Sporangien (Taf. II, Fig. 6. 8. 9).	161	Saccharomyces membranaefaciens, Gärung und Atmung, Kurve.	24
— — —, Sporangienträger (Taf. II, Fig. 1. 3—5).	161	Tabak, Wilt-Disease, gesunde und kranke Pflanze.	327
— — —, Sporen (Taf. II, Fig. 10).	161	—, — —, gesunde und kranke Wurzel.	328
— — —, Stolonen (Taf. II, Fig. 2).	161	Wasseruntersuchungen, bakteriologische, Wasserentnahmeapparate.	484. 485

IV. Neue Literatur.

123. 252. 378. 475. 796.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1
32





3 2044 102 988 219